

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2004 年 1 月 15 日 (15.01.2004)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2004/005515 A1

(51) 国際特許分類: C12N 15/29, C12Q 1/68 // A01H 1/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/003154

(22) 国際出願日: 2003 年 3 月 17 日 (17.03.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2002-197560 2002 年 7 月 5 日 (05.07.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本たばこ産業株式会社 (JAPAN TOBACCO INC.) [JP/JP]; 〒105-8422 東京都港区虎ノ門2丁目2番1号 Tokyo (JP). シンジェンタ リミテッド (SYNGENTA LIMITED) [GB/GB]; GU2 7YH サリー ギルドフォード サリー・リサーチ・パーク プリーストリー・ロード ヨーロピアン・リージョナル・センター Surrey (GB).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小森 俊之 (KOMORI, Toshiyuki) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 高倉 由光 (TAKAKURA, Yoshimitsu) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 樋江井 祐弘 (HIEI, Yuko) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 鈴木 庄一 (SUZUKI, Shoichi) [JP/JP]; 〒323-0808

栃木県 小山市 大字出井 1900 日本たばこ産業株式会社 日本たばこ事業本部内 Tochigi (JP). 倉屋 芳樹 (KURAYA, Yoshiki) [JP/JP]; 〒323-0808 栃木県 小山市 大字出井 1900 日本たばこ産業株式会社 日本たばこ事業本部内 Tochigi (JP).

(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手ビル 206 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: STERILITY RECOVERY GENES TO RICE BT TYPE MALE STERILE CYTOPLASM

(54) 発明の名称: イネ BT 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

(57) Abstract: It is intended to provide sterility recovery genes to rice BT type male sterile cytoplasm. A gene encoding a nucleic acid which has the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:75 or an amino acid sequence having at least a 70% homology with the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:75 and having an ability to restore sterility. It is preferable that the gene has a base sequence represented by any of SEQ ID NOS:69 to 74 and 80 to 85 or the base sequence represented by base nos. 43907 to 46279 in SEQ ID NO:27.

(57) 要約: 本発明は、イネ BT 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子を提供することを目的とする。本発明の遺伝子は、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。本発明の遺伝子は、好ましくは配列番号 69-74、80-85 又は配列番号 27 の塩基 43907-46279 に記載の塩基配列を有する。



WO 2004/005515 A1

## 明細書

## イネ B T 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

5 発明の詳細な説明技術分野

本発明は、イネ B T 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子に関する。

10 本出願は、2002年7月5日に提出された日本特許出願 特願2002-107560号を基礎とする優先権主張出願である。当該日本特許出願の内容は全て本明細書に援用される。

背景技術

15 イネは自殖性植物であるため、品種間で交雑を行う場合には、まず自家受精を避けるためにイネの穎花が開花する直前に穎花内の雄しべを全て取り除き、次いで交雑をする花粉親品種由来の花粉を用いて受精させる必要がある。しかしながら、このような手作業による交雑方法で商業的規模での大量の雑種種子を生産することは不可能である。

そこで、ハイブリッドライスの生産には、細胞質雄性不稔を利用する三系法が利用されている。三系法とは、雄性不稔細胞質を保有する系統である不稔系統、R f - 1 遺伝子を保有する系統である回復系統、および核遺伝子是不稔系統と同一であって不稔細胞質を保有しない系統である維持系統とを使用する方法をいう。これらの3系統を用いて、(i) 不稔系統に回復系統の花粉を受精させることによりハイブリッド種子を獲得することができ、(i i) 一方、不稔系統に維持系統の花粉を受精させることにより不稔系統を維持することができる。

25 三系法で B T 型雄性不稔細胞質を利用するにあたっては、回復系統のイネを育成するために、育種における各過程で育成中のイネが R f - 1 遺伝子を保有すること、また、最終段階では R f - 1 遺伝子をホモで保有することを確認する必要がある。また、三系法において、回復系統に使用する品種が確実に R f - 1 遺伝子を保有することを調べたり、得られたハイブリッド種子が稔性を回復しているか確認するために、R f - 1 遺伝子の存在を調べる必要が生じる場合もある。

従来、植物体中でのR f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定するためには、まず、検定系統と交配を行った交配種子から植物体（F 1）を形成し、次いでF 1 植物を自殖させてその種子の形成率が一定以上（例えば70～80%以上）である個体の出現頻度を調査する必要があった。なお、検定系統とは、維持系統、不稔系統あるいは両系統のセットを指し、目的とする被検定個体の細胞質がB T型か通常細胞質か、あるいは不明かにより適宜選択するものである。不稔系統を検定系統として用いる場合は母親として、維持系統を検定系統として用いる場合は父親として、それぞれ被検定個体に交配する。

しかしながら、これらの方法を行うには、莫大な労力と時間を要する。また、種子稔性は、環境要因の影響を受けやすいので、低温・日照不足などの不良環境で調査すれば、遺伝子型の構成によらず不稔になる場合があり、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型推定が正確に行えないという問題を有していた。

このような問題を解消するために、最近では、分子生物学的方法によりR f - 1 遺伝子の存在を判別する方法も提案されている。それは、R f - 1 遺伝子と連鎖する塩基配列（以下、DNA マーカーという）を検出することにより、R f - 1 遺伝子の存在または不存在を調べる方法である。因みに、R f - 1 遺伝子のDNA配列は未解読であるため、直接R f - 1 遺伝子を検出することは、現在の技術では不可能であった。

例えば、イネのR f - 1 遺伝子座は第10染色体上に存在し、そして、制限酵素断片長多型（RFLP）解析に使用することができるDNAマーカー（RFLPマーカー）座G 2 9 1とG 1 2 7との間であることが報告されている（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165）。このため、R f - 1 遺伝子と連鎖するDNAマーカー座G 2 9 1およびG 1 2 7の遺伝子型を調査することにより、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定することが可能である。

しかしながら、従来の分子生物学的方法にはいくつかの問題が存在する。第一の問題は、従来の方法では、使用するマーカーがRFLPマーカーであり、これを検出するためにはサザンブロット解析を行う必要があるという点である。サザンブロット解析を行うためには、被検定個体から数マイクログラム単位の精製さ

れたDNAを必要とし、さらに制限酵素処理、電気泳動、ブロッティング、プローブとのハイブリダイゼーション、およびシグナルの検出からなる一連の作業手順を行う必要があるため、多大な労力が必要であるうえに、検定結果を得るまでに1週間程度かかっていた。

- 5 第二の問題は、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子地図距離は約30cM（イネDNAでは約9000kbpに相当する）と長いため、二重組換えが起こる可能性が数%程度はあると考えられ、Rf-1遺伝子座の遺伝子型が必ずしも正確に推定できないことである。

- さらに第三の問題は、Rf-1遺伝子の存在をRFLPマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより推定する場合、選抜の結果育成される稔性回復系統には、Rf-1遺伝子と共に、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子領域も導入されるという点である。その結果、導入DNA配列は30cM以上のRf-1遺伝子ドナー親由来の染色体領域を有することになり、導入DNA領域中に存在する可能性がある劣悪遺伝子をRf-1遺伝子と  
10 同時に導入してしまう危険性があった。  
15

- このような問題を解決するため、Rf-1遺伝子座と連鎖する優性DNAマーカー（特開平7-222588）および共優性DNAマーカー（特開平9-313187）が開発されている。これらのマーカーは、Rf-1遺伝子座とそれぞれ、 $1.6 \pm 0.7$  cM（イネDNAでは約480kbpに相当）および $3.7 \pm 1.1$  cM（イネDNAでは約1110kbpに相当）の遺伝的距離で連鎖しており、両座はRf-1遺伝子座を挟む位置関係にある。そのため、優性PCRマーカー座および共優性PCRマーカー座は、これらが両方とも存在すること  
20 を検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を推定することができる。また、共優性PCRマーカーの使用は、Rf-1遺伝子座の遺伝子型がホモかヘテロかも推定することを可能にする。  
25

しかしながら、これらのPCRマーカーを使用する場合にも、依然としていくつかの問題がある。この共優性マーカーはRf-1遺伝子座と $3.7 \pm 1.1$  cMの遺伝距離を有するため、Rf-1遺伝子座との間での組換え頻度が高いという問題が十分には解決されていない。その結果、共優性マーカー自体については



ホモ型またはヘテロ型まで正確に検出することができるが、共優性マーカー座と R f - 1 遺伝子座との間で組換えが生じる場合に、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型の推定、特にホモ型またはヘテロ型までの推定を正確に実施できないという問題がある。一方、優性マーカーを使用して R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定する場合、優性マーカーでは R f - 1 遺伝子がホモの個体 (R f - 1 / R f - 1) およびヘテロの個体 (R f - 1 / r f - 1) の両方を区別することなく検出してしまふ。そのため、上記共優性マーカーと優性マーカーとを組み合わせを利用して R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定したとしても、R f - 1 遺伝子に関するホモ型とヘテロ型とを正確に識別することはできない。また、優性マーカーを用いて行う P C R では、P C R 産物が得られなかった場合には、実験操作上の問題に起因する可能性も否定できない。さらに、これらの共優性マーカーと優性マーカーとの間の遺伝的距離が約 5 . 3 c M (約 1 5 9 0 k b p) と離れているため、R f - 1 遺伝子ドナー親からの導入染色体領域長を短い長さに限定することができないので、この領域中に含まれる劣悪遺伝子の持ち込みを抑制できないという問題点も有している。

さらに、特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 には、イネ第 1 0 染色体の R f - 1 遺伝子の近傍に座乗する R F L P マーカーの塩基配列に基づいて開発された、共優性 P C R マーカーが記載されている。しかしながら、それらの P C R マーカーは、依然として R f - 1 遺伝子からの遺伝的距離が約 1 c M より離れているという問題を有している。

#### 発明の開示

本発明は、イネの稔性を回復する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する、ことを含む。本発明の方法の、好ましい一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、以下の a) - p) の核酸から選択される：

a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；

- b) 配列番号 70 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸 ;
- c) 配列番号 71 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸 ;
- d) 配列番号 72 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸 ;
- e) 配列番号 73 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸 ;
- 5 f) 配列番号 74 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸 ;
- g) 配列番号 27 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 80 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 81 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 82 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- 10 k) 配列番号 83 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 84 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 85 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 15 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。
- 本発明の方法において、上記配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号
- 20 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、好ましくは、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす :
- 1) 配列番号 69 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 70 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基が A である ;
- 25 3) 配列番号 71 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基が A である ;
- 4) 配列番号 72 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基が A である ;
- 5) 配列番号 73 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基が A である ;
- 6) 配列番号 74 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基が A である ;
- 7) 配列番号 80 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基が A である ;

- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である ;  
9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である ;  
10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である ;  
11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である ; 又は  
5 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

本発明はまた、上記配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して、被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、一  
10 態様において、好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有すると判断する :

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である ;  
15 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である ;  
3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である ;  
4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である ;  
5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である ;  
6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である ;  
20 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である ;  
8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である ;  
9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である ;  
10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である ;  
11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である ; 又は  
25 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

本発明は、さらに、Rf-1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供することを目的とする。本発明の抑制方法は、一態様において、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩

基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

本発明はさらにまた、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、を提供することを目的とする。本発明は、一態様において、以下のa) - p)

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- 10 d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 配列番号80の塩基229-2601を含む核酸；
- 15 i) 配列番号81の塩基175-2547を含む核酸；
- j) 配列番号82の塩基227-2599を含む核酸；
- k) 配列番号83の塩基220-2592を含む核酸；
- l) 配列番号84の塩基174-2546を含む核酸；
- m) 配列番号85の塩基90-2462を含む核酸；
- 20 n) 上記a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- o) 上記a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- p) 上記a) - m) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- 25 から選択される核酸を提供する。

#### 図面の簡単な説明

図1は、RFLPマーカー座S12564を起点とする染色体歩行の結果を示す。

図2は、BACクローンAC068923とラムダクローンコンティグとの位置関係を示す。

図3は、Rf-1座極近傍組換え型花粉（いずれも稔性あり）のRf-1座極近傍の染色体構成を、その花粉から生じた10個体（RS1、RS2、RC1-8）のマーカー座の遺伝子型に基づき、明らかにした結果を示したものである。白抜き部分はジャポニカ型領域を、黒部分はインディカ型領域を示す。

図4は、第10染色体上のマーカー座とRf-1座との連鎖分析の結果に基づき、Rf-1座の連鎖地図上での位置を示したものである。地図距離は、1042F1個体の分離データから算出した。

図5は、相補性試験によるRf-1領域の同定のために使用した、10個のゲノムクローン由来の断片を示す。染色体歩行により得られたλクローン（細い線）を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。XS F18は、欠失を含むクローンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

図6は、XSG16由来の15.7kb（実施例10）及びXS F18由来の16.2kb断片（実施例8）を用いた相補性試験の結果を示す。XSG16由来の15.7kbでは稔性が回復し、稲穂がたれている。

図7は、Rf-1遺伝子構造の模式図を示す。白棒部分および黒線部分は、それぞれエキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

図8は、相補性試験を行ったIR24ゲノム断片、cDNAライブラリースクリーニングに用いたプローブ及び単離したcDNAから推定したRf-1遺伝子の位置関係の模式図を示す。Rf-1遺伝子の白棒部分および黒線部分は、それぞれ、エキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明者らは、まず、Rf-1の存在部位を第10染色体上の極めて狭い範囲に特定した。その結果に基づいて、Rf-1遺伝子座の近傍に存在するPCRマーカーを開発し、これらのPCRマーカーが、Rf-1遺伝子座と連鎖すること

を利用して、R f - 1 遺伝子を検出する方法が見出された。具体的には、R f - 1 遺伝子座が、イネ第 10 染色体上に存在する P C R マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に座乗することを利用して、近傍に存在する新規の P C R マーカー座の遺伝子型を調査することにより、

5 R f - 1 遺伝子の有無の調査および R f - 1 遺伝子ホモ型個体の選抜を実施する。当該 R f - 1 遺伝子を検出する方法につき、本発明者らは、平成 12 年 8 月 17 日に特願 2000-247204 として特許出願を行っている。当該出願の全内容は参考文献として本明細書に援用される。

I. 特願 2000-247204 に記載の R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推

10 定する方法

特願 2000-247204 は、R f - 1 遺伝子座がイネ第 10 染色体上の R F L P マーカー座 S 1 2 5 6 4 座と C 1 3 6 1 座との間に座乗することを利用して、被検定イネ個体または種子が R f - 1 遺伝子を持つか否かを識別する方法について記載している。

15 マーカー

R f - 1 遺伝子座の近傍に存在する特定の領域に対して設計したプライマー対を用いて P C R を行い、その産物を特定の制限酵素で処理後電気泳動にかけると、ジャポニカ系統とインディカ系統との間で、異なる大きさのバンドが観察されることがある。そのような場合、インディカ系統に特徴的なバンドを R f - 1

20 連鎖バンドとする。本発明者らにより、R f - 1 遺伝子座は、イネ第 10 染色体上に存在する P C R マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に座乗することが明らかにされ、その周辺での P C R マーカーは当業者が適宜開発して使用可能となった。

例えば、下記の群から選択される P C R マーカーの少なくとも 1 個を被検体イ

25 ネのゲノム中に存在するか否か検出することにより、被検定個体がこれらの P C R マーカーと連鎖する R f - 1 遺伝子を持つか否かを識別する：

(1) マーカー 1： 配列番号 1 および配列番号 2 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素

E c o R I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー R 1 8 7 7 E c o R I ;

(2) マーカー 2 : 配列番号 3 および配列番号 4 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素  
5 H i n d I I I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー G 4 0 0 3 H i n d I I I (配列番号 1 9) ;

(3) マーカー 3 : 配列番号 5 および配列番号 6 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素  
10 M w o I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー C 1 3 6 1 M w o I (配列番号 2 0) ;

(4) マーカー 4 : 配列番号 7 および配列番号 8 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素  
15 M w o I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー G 2 1 5 5 M w o I (配列番号 2 1) ;

(5) マーカー 5 : 配列番号 9 および配列番号 1 0 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵  
20 素 M s p I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー G 2 9 1 M s p I (配列番号 2 2) ;

(6) マーカー 6 : 配列番号 1 1 および配列番号 1 2 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限  
25 酵素 B s l I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー R 2 3 0 3 B s l I (配列番号 2 3) ;

(7) マーカー 7 : 配列番号 1 3 および配列番号 1 4 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限

酵素 B s t U I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー S 1 0 0 1 9 B s t U I (配列番号 2 4) ;

- (8) マーカー 8 : 配列番号 1 5 および配列番号 1 6 の配列を有する DN  
 5 A をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 K p n I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー S 1 0 6 0 2 K p n I (配列番号 2 5) ; および

- (9) マーカー 9 : 配列番号 1 7 および配列番号 1 8 の配列を有する DN  
 10 A をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 T s p 5 0 9 I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I (配列番号 2 6) 。

- なお、上記 PCR マーカーは、R f - 1 遺伝子座が、イネ第 1 0 染色体上の 9  
 15 個の R F L P マーカー領域 R 1 8 7 7、G 2 9 1、R 2 3 0 3、S 1 2 5 6 4、C 1 3 6 1、S 1 0 0 1 9、G 4 0 0 3、S 1 0 6 0 2、および G 2 1 5 5 付近に座乗する可能性が高いと考え (F u k u t a e t a l. 1 9 9 2, J p n J. B r e e d. 4 2 (s u p l. 1) 1 6 4 - 1 6 5 による R F L P 連鎖解析結果、および H a r u s h i m a e t a l. 1 9 9  
 20 8, G e n e t i c s 1 4 8 4 7 9 - 4 9 4 によるイネ R F L P 連鎖地図を参照)、これらの R F L P マーカーを、後記参考例 1 に記載するようにして、共優性 PCR マーカーである C A P S マーカーまたは d C A P S マーカー (M i c h a e l s a n d A m a s i n o 1 9 9 8, T h e P l a n t J o u r n a l 1 4 (3) 3 8 1 - 3 8 5; N e f f e t a l. 1 9 9 8, T h e p l a n t J o u r n a l 1 4 (3) 3 8  
 25 7 - 3 9 2) に変換した。この変換により、上記 PCR マーカーが得られた。

これらの PCR マーカーのうち、PCR マーカー R 1 8 7 7 E c o R I、G 2 9 1 M s p I (配列番号 2 2)、R 2 3 0 3 B s l I (配列番号 2 3) および S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I (配列番号 2 6) からなる群と、P



CRマーカーC1361 MwoI（配列番号20）、S10019 BstUI（配列番号24）、G4003 HindIII（配列番号19）、S10602 KpnI（配列番号25）、およびG2155 MwoI（配列番号21）からなる群とは、第10染色体上でRf-1遺伝子座を挟んで反対側に存在する。

従って、一態様において、（a）PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI、R2303 BslIおよびS12564 Tsp509Iからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカー、並びに（b）PCRマーカーC1361 MwoI、S10019 BstUI、G4003 HindIII、S10602 KpnI、およびG2155 MwoIからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を検出する。その際、上記（a）の群からRf-1遺伝子に最も近いマーカーとして、少なくともPCRマーカーS12564 Tsp509Iおよび上記（b）の群から少なくともC1361 MwoIを使用することが好ましい。被検定イネのゲノム中に、（a）のPCRマーカーによるRf-1連鎖バンドと（b）のPCRマーカーによるRf-1連鎖バンドの両方が検出されれば、そのイネがRf-1遺伝子を有する可能性を高い確率で推定することができる。

別の態様においては、上記（a）の群から少なくとも二つのPCRマーカー、及び（b）の群から少なくとも二つのPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出する。例えば、（a）及び（b）の群のマーカーのうち、図1に示す遺伝子地図において、Rf-1遺伝子により近いマーカーによりRf-1連鎖バンドが検出され、それよりRf-1遺伝子から遠いマーカーによりRf-1連鎖バンドが検出されないイネ個体を選抜することにより、Rf-1遺伝子を有するが、不要な遺伝子領域をできるだけ含まないイネを選抜することが可能である。この場合も、（a）及び（b）の各群のマーカーのうち少なくとも一つは、それぞれPCRマーカーS12564 Tsp509IおよびC1361 MwoIであることが好ましい。すなわち、2種のPCRマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoIは、マーカー座間距離にして0.3cM離

れている。この性質を利用することにより、R f - 1 遺伝子ドナー親から導入する染色体領域を1 c M程度に狭めることができる。その結果、ドナー親のR f - 1 遺伝子近傍に存在する可能性がある劣悪遺伝子が回復系統に導入される可能性を最小限に抑えることができる。

## 5 R f - 1 遺伝子の検出

被検定イネゲノム中のR f - 1 遺伝子を検出するには、上記配列番号1 - 1 8 のプライマーを用いて、被検定イネゲノムから上記P C RマーカのいずれかをP C Rで増幅させ、ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型（P C R - R F L P）法で検出する。P C R - R F L P法は、比較する品種系統間において、P C Rにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合  
10 C Rにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを簡便に決定する方法である（D. E. H a r r y, e t a l., T h e o r A p p l G e n e t （1998） 97:327-336）。

制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用したプライマー対に応じて、以下の表1のようなバンドの存在の有無が確認される。  
15

表 1

-----	
	検出されるバンドの およそのサイズ（b p）
-----	
20	プライマー対1によるマーカー1の検出（R1877 EcoRI）
	被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 1500及び1700
	被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 1500、1700及び3200
	被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 3200
-----	
25	プライマー対2によるマーカー2の検出（G4003 HindIII）
	被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 362
	被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 95、267及び362
	被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 95及び267

-----  
 プライマー対 3 によるマーカー 3 の検出 (C1361 MwoI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 50及び107

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、50、79及び107

5 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25、50及び79  
 -----

プライマー対 4 によるマーカー 4 の検出 (G2155 MwoI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、27及び78

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、27、78及び105

10 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び105  
 -----

プライマー対 5 によるマーカー 5 の検出 (G291 MspI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、49及び55

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、49、55及び104

15 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び104  
 -----

プライマー対 6 によるマーカー 6 の検出 (R2303 BslI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 238、655及び679

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 238、655、679

20 及び1334

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 238及び1334  
 -----

プライマー対 7 によるマーカー 7 の検出 (S10019 BstUI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 130、218及び244

25 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 130、218、244

及び462

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 130及び462  
 -----

プライマー対 8 によるマーカー 8 の検出 (S10602 KpnI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 117, 607及び724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 117及び607

-----

5 プライマー対9によるマーカー9の検出 (S12564 Tsp509I)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 41及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 26, 41, 91及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 26, 41及び91

-----

10

I I. R f - 1 遺伝子座領域の特定

以上、特願2000-247204において、R f - 1 遺伝子座がDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座との間に座乗することが本発明者らにより明らかにされ、これを利用したR F L P - P C R用マ

15 ーカーが記載されている。R f - 1 遺伝子を持たない通常のジャポニカ品種に、戻し交雑によりR f - 1 遺伝子を導入することにより回復系統が育成される。その過程で、特願2000-247204に記載のR f - 1 遺伝子座の識別方法を用いると、回復系統の育成が効率的（必要期間は2～3年）になるだけでなく、導入断片長を制御することができる。

20 しかしながら、交雑による導入では、R f - 1 極近傍領域をも同時に導入することは避けられない。特願2000-247204において、R f - 1 遺伝子座がDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座との間に座乗することが解明されたが、両遺伝子座は約0.3 c M、即ち約90 k b pである。仮にR f - 1 極近傍に劣悪遺伝子が存在すれば、R f - 1 遺伝子と

25 もにその劣悪遺伝子も導入される可能性が否定できない。

そこで、本発明者らはDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座の間の領域について、R f - 1 遺伝子座とDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 Iとが密接連鎖することを手がかりに、染色体歩行および遺伝学的解析を行うことにより、R f - 1 遺伝子と連鎖する領域を調べ

た。その結果、R f - 1 遺伝子を含むR f - 1 遺伝子座領域を約76 kbまで特定し、そして当該領域の全塩基配列を決定することに成功した。本発明により、BT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子の機能を遺伝子工学的に導入することが可能となった。

5        具体的には、特願2000-247204では、MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリ（R f - 1 座ヘテロ）の花粉をかけて作成した集団1042個体を用いて連鎖分析を行い、R f - 1 座とS12564    Tsp509I座との間での組換え個体を1個体、R f - 1 座とC1361    MwOI座との間での組換え個体を2個体見出した（本明細書中の参考例1-2）。本発明では、上記集団をさら  
10        らに4103個体追加し、合計5145個体として解析を行った。その結果、新たに、R f - 1 座とS12564    Tsp509I座との間での組換え個体を1個体、R f - 1 座とC1361    MwOI座との間での組換え個体を6個体見出し、それぞれの組換え個体の合計を2個体および8個体とした。これら10個体をR f - 1 座極近傍組換え個体として、本発明の高精度分離分析に供試すること  
15        とした（実施例1）。

      R f - 1 座とS12564    Tsp509I座との間での組換え個体が2個体に対し、C1361    MwOI座との間での組換え個体が8個体という上記の組換え個体出現頻度は、S12564    Tsp509I座とC1361    MwOI座とを比較すると、S12564    Tsp509I座のほうが遺伝学的にR f -  
20        1座に近いことを意味する。遺伝的距離（組換え価cMが単位）と物理的距離（塩基対数bpが単位）とは必ずしも比例しないが、通常は遺伝的距離が短ければ物理的距離も短いと期待できる。

      そこで、S12564    Tsp509I座を起点に染色体歩行を行うことにより、R f - 1 座を単離することとした（実施例2）。染色体歩行には、インディ  
25        カ品種IR24およびジャポニカ品種あそみのりのゲノムDNAを用いてλ DASH    IIベクターにより作成したゲノミックライブラリーを供試した。IR24はR f - 1 保有品種、あそみのりはR f - 1 非保有品種である。染色体歩行を進めた結果、IR24のゲノミッククローンにより約76 kbの染色体領域をカバーするコンティグ（複数のクローンを重複部分で重ね合わせて染色上での順

に整列化したもの)を作成することができ、その全塩基配列(7 6 3 6 3 b p)を決定した。

次いで、得られた塩基配列情報等を利用することにより、新たに12個のマーカーを開発し、既述のRf-1座極近傍組換え個体10個体を用いて、高精度分離分析を行った(実施例3)。その結果、上記の約76kbの染色体領域に含まれる65kbの配列がRf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列を包含することが示された。この領域は、8個のゲノミッククローンから構成されるコンティグによりカバーされている。各クローンの長さは、約12~22kbであり少なくとも4.7kbの重複部を持つ。一方、イネの遺伝子の長さについては、短いものから長いものまでであることが知られているが、大部分の遺伝子は数kb以内であると考えられる。そのため、これら8個のゲノミッククローンのうち、少なくともひとつは完全長のRf-1遺伝子を包含すると予測される。

本発明者らはさらに、上記76kbの染色体領域のうち、Rf-1遺伝子領域をさらに絞り込むと共に、稔性回復能の存在を直接的に証明するために、相補性試験を行った。

具体的には、雄性不稔系統であるMSコシヒカリの未熟種子に、上記76kb領域内の10個の部分断片(各10~21kb)を、別々に遺伝子工学的に導入した(図5)。使用された10個の部分断片のうち、8個は先に染色体歩行で得られた8個のゲノミッククローン(図1、実施例3に記載のXSE1、XSE7、XSF4、XSF20、XSG22、XSG16、XSG8及びXSH18)に由来するものである。これらに加えて、さらに2個のクローンXSF18およびXSX1に由来する断片についても相補性試験を行った。XSF18はXSF20と5'末端及び3'末端(各々、配列番号27の塩基20328及び41921)が同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことに因る(実施例8)。また、XSX1は、クローンXSG8とXSH18の重複部分がやや小さいため(約7kb)、

制限酵素処理およびライゲーションにより両クローンから、重複部分を十分に含むようなクローンを新たに作成したものである（実施例 13）。

R f - 1 は優性遺伝子であるので、導入した断片が R f - 1 遺伝子を完全に包含している場合には、形質転換植物当代において稔性が回復する。相補性試験において、各断片について形質転換植物の種子稔性調査を行い、λファージクロー  
5 X S G 1 6 に由来する 1 5 . 6 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例 10）。他の断片については、形質転換植物はすべて不稔であった。これらの結果から、上記 1 5 . 6 k b 断片が R f - 1 遺伝子を完全に  
10 包含していることが示された。さらに、本発明により、R f - 1 遺伝子を遺伝子工学的に導入する方法が提供され、その有効性が実証された。

本発明者は、λファージクローン X S G 1 6 のどの部分が R f - 1 遺伝子を含むかをさらに特定するために、前述の 1 5 . 6 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を含む）よりも短い断片について相補性試験による種子稔  
15 性調査を行った。その結果、X S G 1 6 に由来する 1 1 . 4 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3 を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例 10（2））。さらに、より短い 6 . 8 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 を含む）を導入した形質転換体においても、種子稔性が回復した（実施例 10（3））。これら  
20 の結果から、上記 6 . 8 k b 断片が R f - 1 遺伝子を包含していることが示された。

本発明者らは、さらに研究をすすめ、稔性回復機能を有する核酸を特定し、それによってコードされるアミノ酸配列も明らかとなった。具体的には、実施例 1 4 - 1 5 に記載したように、先ず、配列番号 2 7 の 4 3 7 3 3 - 4 4 0 3 8 及び  
25 4 8 3 0 6 - 5 0 2 2 6 に相当する DNA 断片を P C R を用いて作成した。これらの 2 種の断片をプローブ（プローブ P 及び Q）として、コシヒカリに R f - 1 を導入した系統より作成した c D N A をライブラリーをスクリーニングした。その結果、6 個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致し、R f - 1

遺伝子を含むクローンとして単離され、塩基配列が解析された（配列番号 6 9 - 7 4）。

配列番号 6 9 - 7 4 のいずれの配列も、配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 を持つタンパク質をコードする。具体的には、各々配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 及び配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 が、いずれも配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応する。

配列番号 7 5 のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子（R f 2）の推定アミノ酸配列（C u i e t a l. , 1 9 9 6）と比較したところ、N 末端の 7 アミノ酸残基（M e t - A l a - A r g - A r g - A l a - A l a - S e r）が一致した。これら 7 アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている（L i u e t a l. , 2 0 0 1）。これらのことから、今回単離した c D N A は R f - 1 遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネ R f - 1 とトウモロコシ R f 2 とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。

また、今回単離した c D N A の配列を I R 2 4 のゲノム配列（配列番号 2 7）と比較し、R f - 1 遺伝子のエキソンとイントロンの構造を明らかにした（図 7）。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリ A 付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。R f - 1 遺伝子のコード領域内には、イントロンは介在しない。

本発明者は、実施例 1 0 （3）の相補性実験で種子稔性を回復した 6 . 8 k b 断片について、さらに相補性実験を行った。具体的には、実施例 1 6 において、前記 6 . 8 k b 断片中の R f - 1 遺伝子のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4 . 2 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8）を用いて、相補性実験を行ったところ、種子稔性が回復した。

さらに、実施例 1 7 において稔性回復機能を有する核酸を含むクローンを新たに 6 個取得した。具体的には、先ず、配列番号 2 7 の塩基 4 5 5 2 2 - 4 5 5 4



5 及び4 5 9 5 5 - 4 5 9 3 2に相当する2種類のプライマーを用いて、I R 2 4のゲノミッククローンX S G 1 6をテンプレートにP C Rを行い、DNA断片を得た。当該DNA断片をプローブRとして、前記プローブPとともにブランクハイブリダイゼーションを行なった。プローブPおよびプローブRのどちらでも  
5 陽性を示すブランクから、新たに6個のクローンを得た（# 7 - # 1 2）。その結果を配列番号8 0 - 8 5に示す。

配列番号8 0 - 8 5のいずれの配列も、配列番号7 5のアミノ酸配列1 - 7 9 1を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号8 0  
10 の塩基2 2 9 - 2 6 0 1、配列番号8 1の塩基1 7 5 - 2 5 4 7、配列番号8 2の塩基2 2 7 - 2 5 9 9、配列番号8 3の塩基2 2 0 - 2 5 9 2、配列番号8 4の塩基1 7 4 - 2 5 4 6及び配列番号8 5の塩基9 0 - 2 4 6 2が、いずれも配列番号7 5のアミノ酸配列1 - 7 9 1をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号2 7の塩基4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9に対応する。

今回単離したc D N Aの配列をI R 2 4のゲノム配列（特願2 0 0 1 - 2 8 5  
15 2 4 7配列番号2 7）と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった（図8）。今回単離したc D N Aのなかには、予想翻訳領域とは関係のないエキソンを含まず、単一エキソンからなるものも3個存在した（# 1 0 - # 1 2、配列番号8 3 - 8 5）。

#### I I I. R f - 1 遺伝子座を含む核酸

20 本発明は、稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸を提供する。

本発明の稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸は、配列番号2 7の塩基配列を有する核酸、又は配列番号2 7の塩基配列と少なくとも7 0 %同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。さらに、実施例1 0に記載したように、配列番号2 7の塩基配列のうち、特に塩基3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3にR  
25 f - 1 遺伝子が完全に含まれていると確認された。R f - 1 遺伝子を含む領域はさらに、好ましくは、配列番号2 7の塩基3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、より好ましくは、塩基4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、さらに好ましくは、塩基4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8と特定された。

本発明者らはさらに、研究を進め、R f - 1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- 5 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、
- 10 i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 及び
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2。

- 15 上記塩基配列は、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応し、そして、いずれも配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 をコードする。

- 以下、本明細書中、文脈により「配列番号 2 7 の塩基配列」という用語は、配列番号 2 7 全体、あるいは、その一部であって稔性回復機能に関与する部分、特に、塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を示す。より好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5
- 20 3 7 4 3、さらに好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 を示す。そして、特に好ましくは、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- 25 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 又はm) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 のいずれかを示す。

後述する実施例では、稔性回復遺伝子（R f - 1）を含む核酸として、R f - 1 遺伝子を含むインディカ米の I R 2 4 のゲノムライブラリーより核酸が単離され、配列番号 2 7 の塩基配列が決定された。しかしながら、本発明の、稔性回復遺伝子（R f - 1）を含む核酸の由来は、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種由来のものであれば特に限定されない。R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種は、特に限定されず、例えば、I R 2 4、I R 8、I R 3 6、I R 6 4、Chinsurah、Boro I I が含まれる。R f - 1 遺伝子を有しないジャポニカ型品種としては、例えば、限定されるわけではないが、あそみのり、コシヒカリ、きらら 3 9 7、アキヒカリ、あきたこまち、ササニシキ、キヌヒカリ、日本晴、初星、黄金晴、ヒノヒカリ、ミネアサヒ、あいちのかおり、ハツシモ、アケボノ、フジヒカリ、峰の雪もち、ココノエモチ、ふくひびき、どんとこい、五百万石、ハナエチゼン、トドロキワセ、はえぬき、どまんなか、ヤマヒカリ等が知られている。「インディカ型品種」も「ジャポニカ型品種」も当業者に周知であり、当業者はどのようなイネ品種が本発明の対象となり得るか容易に判断できる。

本発明の核酸は、一本鎖および二本鎖型両方の DNA と共に、その RNA 相補体も含む。DNA には、例えば、ゲノム DNA（その対応する c DNA も含む）、化学的に合成された DNA、PCR により増幅された DNA、およびそれらの組み合わせが含まれる。

本発明の R f - 1 遺伝子を含む核酸は、好ましくは配列番号 2 7 の塩基配列を有する。1 つ以上のコドンが同一のアミノ酸をコードする場合があり、遺伝暗号の縮重と呼ばれている。このため、配列番号 2 7 と完全には一致していない DNA 配列が、配列番号 2 7 と全く同一のアミノ酸配列を有するタンパク質をコードすることがあり得る。こうした変異体 DNA 配列は、サイレント（silent）突然変異（例えば、PCR 増幅中に発生する）から生じててもよいし、または天然配列の意図的な突然変異誘発の産物であってもよい。

本発明の R f - 1 遺伝子は、好ましくは配列番号 7 5 に記載のアミノ酸配列をコードする。しかしながら、これに限定されることなく、1 またはそれ以上のアミノ酸配列が欠失、付加または置換しているアミノ酸配列を有していてもよい。

、稔性回復機能を有する限り、全ての相同タンパク質を含むことが意図される。

「アミノ酸変異」は1から複数個、好ましくは、1ないし20個、より好ましくは1ないし10個、最も好ましくは1ないし5個である。Rf-1遺伝子にコードされるアミノ酸配列は、配列番号75に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約  
5 70%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。

アミノ酸の同一性パーセントは、視覚的検査及び数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つのタンパク質配列の同一性パーセントは、Needleman, S. B. 及び Wunsch, C. D. (J. Mol. Biol., 48:  
10 443-453, 1970) のアルゴリズムに基づき、そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ (UWCGC) より入手可能なGAPコンピュータープログラムを用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには: (1) Henikoff, S 及び Henikoff, J. G. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919, 1992) に記載されるような、  
15 スコアリング・マトリックス、blosum62; (2) 12のギャップ加重;  
(3) 4のギャップ長加重; 及び (4) 末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。

当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。同一  
20 性のパーセントは、例えば Altschul ら (Nucl. Acids. Res. 25., p. 3389-3402, 1997) に記載されているBLASTプログラムを用いて配列情報と比較し決定することが可能である。当該プログラムは、インターネット上でNational Center for Biotechnology Information (NCBI)、あるいはDNA  
25 Data Bank of Japan (DDBJ) のウェブサイトから利用することが可能である。BLASTプログラムによる相同性検索の各種条件 (パラメーター) は同サイトに詳しく記載されており、一部の設定を適宜変更することが可能であるが、検索は通常デフォルト値を用いて行う。

同一の機能を有するタンパク質であっても、由来する品種の相違によって、そのアミノ酸配列に相違が存在しうることは当業者にとって周知の事実である。本発明の R f - 1 遺伝子は、稔性回復機能を有する限り、配列番号 27 の塩基配列のこのような相同体、変異体も含みうる。「稔性回復機能を有する」とは、当該 DNA 断片が導入された場合に、イネ個体又は種子に稔性を付与することを意味する。稔性回復は、R f - 1 遺伝子よりタンパク質が発現されることに因ってもよく、あるいは R f - 1 遺伝子の核酸（DNA 又は RNA）自体が稔性の付与に何らかの機能をしていてもよい。

限定されるわけではないが、R f - 1 遺伝子の相同体、変異体が稔性回復機能を有するか否かは、例えば、以下のように調べることが可能である。MS コシヒカリ（不稔系統）にコシヒカリの花粉をかけることにより得た未熟種子を供試して、H i e i e t a l ( P l a n t J o u r n a l ( 1 9 9 4 ) , 6

( 2 ) , p . 2 7 2 - 2 8 2 ) の方法に従い、被検定核酸断片を導入する。得られた形質転換体を通常の条件で栽培すると、被検定核酸断片が稔性回復機能を有する場合にのみ、種子が稔る。

R f - 1 遺伝子を有しないジャポニカ型のあそみのりの対応する領域に由来する核酸は、配列番号 28 に示した塩基配列を有する。配列番号 28 と配列番号 27 の対応する部分は、全体として約 98% の同一性を有する。よって、本発明の稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸は、配列番号 27 と少なくとも約 7

0%、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは 90% 以上、さらに好ましくは 95% 以上、最も好ましくは 98% 以上の同一性を有する。「配列番号 27」

は、特に好ましくは、g) 配列番号 27 の塩基 43907 - 46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587、b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585、c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590、d)

配列番号 72 の塩基 208 - 2580、e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521、f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597、h) 配列番号 80 の塩基 229 - 2601、i) 配列番号 81 の塩基 175 - 2547、j) 配列番号 82 の塩基 227 - 2599、k) 配列番号 83 の塩基 220 - 2592、l) 配列番号

84の塩基174-2546又はm)配列番号85の塩基90-2462のいずれかを意図する。

核酸の同一性パーセントは、視覚的検査および数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つの核酸配列の同一性パーセントは、Devereuxら、

- 5 Nucleic Acids Res., 12:387 (1984)に記載され、そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ(UWGCG)より入手可能なGAPコンピュータープログラム、バージョン6.0を用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには：(1)ヌクレオチドに関する単一(unary)比較マトリックス(同一に対し1および非同一次元に対し0の値を含む)、およびSchwartzおよびDayhoff監修、Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)に記載されるような、GribskovおよびBurgess, Nucleic Acids Res. 14:6745 (1986)の加重比較マトリックス；(2)各ギャップに対する3.0のペナルティおよび各ギャップ中の各記号に対しさらに0.10のペナルティ；および(3)末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。
- 10
- 15

- 20 本発明の核酸はまた、配列番号27の塩基配列に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸、並びに、配列番号27の塩基配列に高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸を含む。

- 本明細書において使用されるように、中程度にストリンジェントな条件は、例えば、DNAの長さに基づき、一般の技術を有する当業者により、容易に決定することが可能である。基本的な条件は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Vol. 1, pp. 1.101-104, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)に示されている。
- 25

例えば、ニトロセルロースフィルターに関し、5 X S S C、0.5 % S D S、1.0 mM E D T A (p H 8.0) の前洗浄溶液、約 40℃ないし 60℃での、1 X S S Cないし 6 X S S C (または約 42℃での約 50%ホルムアミド中の、例えばスターク溶液 (S t a r k' s s o l u t i o n) などの他の同様のハイブリダイゼーション溶液) のハイブリダイゼーション条件、および約 60℃、0.5 X S S C、0.1 % S D S の洗浄条件の使用が含まれる。また、例えば、ハイブリダイゼーション溶液が約 50%ホルムアミドを含む場合、上記ハイブリダイゼーション温度は約 15℃ないし 20℃低めとなる。非常にストリンジェントな条件もまた、例えば DNA の長さに基づき、当業者により、容易に決定することが可能である。一般に、非常にストリンジェントな条件は、上記中程度にストリンジェントな条件よりも、より高い温度及び／又はより低い塩濃度でのハイブリダイゼーション、及び／又は洗浄条件を含む、例えば、約 60℃ないし 65℃での 0.1 X S S Cないし 0.2 X S S C のハイブリダイゼーション条件、および／又は約 65℃ないし 68℃、0.2 X S S C、0.1 % S D S の洗浄条件を含む。当業者は温度および洗浄溶液塩濃度は、プローブの長さなどの要因にしたがい、必要に応じ調整してもよいことを認識するであろう。

「配列番号 27」は、特に好ましくは、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、e) 配列番号 73 の塩基 149-2521、f) 配列番号 74 の塩基 225-2597、h) 配列番号 80 の塩基 229-2601、i) 配列番号 81 の塩基 175-2547、j) 配列番号 82 の塩基 227-2599、k) 配列番号 83 の塩基 220-2592、l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 又は m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 のいずれかを意図する。

同様に、本発明の DNA には、1つまたは複数の塩基の欠失、挿入または置換のため、配列番号 27 の塩基配列とは異なるが稔性回復機能を有する核酸を含む。稔性回復機能を有する限り、欠失、挿入または置換される塩基の数は特に制限されないが、好ましくは 1 個ないし数千個、より好ましくは 1 個ないし千個、

さらにこのましくは1個ないし500個、さらにより好ましくは1個ないし200個、最も好ましくは1個ないし100個である。

本明細書の記載に基づいてRf-1遺伝子がより特定され、当業者がRf-1遺伝子以外の部分またはRf-1遺伝子内のイントロン部分などの核酸を除いて  
5 使用することが可能である。また、既定のアミノ酸（特に配列番号75に記載のアミノ酸配列）を、例えば同様の物理化学的特性を有する残基により置換してもよい。こうした保存的置換の例には、1つの脂肪族残基を互いに、例えばIle、Val、Leu、またはAlaを互いに置換するもの；LysおよびArg、GluおよびAsp、またはGlnおよびAsn間といった、1つの極性残  
10 基から別のものへの置換；あるいは芳香族残基の別のものでの置換、例えばPhe、Trp、またはTyrを互いに置換するものが含まれる。他の保存的置換、例えば、同様の疎水性特性を有する領域全体の置換が、周知である。当業者は、周知の遺伝子工学的手法により、Sambrookら、Molecular  
15 Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)等に記載の、例えば部位特異的突然変異誘発法を使用して、所望の欠失、挿入または置換を施すことが可能である。

本発明者らは、Rf-1遺伝子を有するインディカ型のIR24（塩基配列27）と、有しないジャポニカ型のあそみのり（塩基配列28）およびGenBankに登録されている日本晴BACクローン（アクセッション番号AC068923）とを比較した。その結果、Rf-1遺伝子を含むインディカ型のRf-1  
20 領域は少なくとも、以下の1塩基多型（SNP）を有することを見出した。

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 25 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び



8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基が G である。

よって、本発明の R f - 1 領域を含む核酸は、好ましくは上記条件 1) - 8) の 1 つないし全てを満たす。

5      なお、後述の実施例 3 において、R f - 1 遺伝子極近傍組換え個体 (R S 1 - R S 2、R C 1 - R C 8) についてその R f - 1 領域の染色体構成を調べた。その結果、配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7 の塩基配列、即ち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7   M b o I 座から B 5 6 6 9 1   X b a I 座までの領域 (約 6.5 kb) (図 3) に、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることが明らかにされた。ただし、R f - 1 遺伝子の一部の遺伝子型がイン  
10    ディカ型であることが、R f - 1 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。極端な場合、ジャポニカ・インディカ間でコーディング領域は完全に同一で、プロモーター領域だけに差があり、そして、プロモーター領域及びコーディング領域の一部のみが上記 P 4 4 9 7   M b o I 座から B 5 6 6 9 1  
15    X b a I 座までの領域 (約 6.5 kb) に含まれることもあり得る。よって、上記共有インディカ型領域 (配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7) が R f - 1 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

- 1) 遺伝子の大きさは通常数 kb であり 10 kb を超えることは稀である；
  - 20      2) 本発明で明らかにした I R 2 4 のゲノム塩基配列 (配列番号 27) は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；
  - 3) 配列番号 27 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から 1 2 3 8 b p 上流に位置し、別の遺伝子 (S 1 2 5 6 4) の一部である；および
  - 4) 配列番号 27 の 3' 末端は、上記共有インディカ型領域の 3' 末端から  
25    1 0 0 9 6 b p 下流に位置する
- により、少なくとも配列番号 27 は R f - 1 遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

このように、本発明者らは、まず R f - 1 遺伝子領域を 7.6 kb まで絞り込むことに成功した。よって、本発明の R f - 1 遺伝子領域を含む核酸は、従来技術

の特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 に記載の R f - 1 遺伝子からの遺伝子距離が約 1 c M (約 3 0 0 k b) ある共優性マーカー座を用いて選抜した場合よりも、R f - 1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明者らの先の特願 2 0 0 0 - 2 4 7 2 0 4 に記載の DNA マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I と C 1 3 6 1 M w o I 座 (両遺伝子座の距離は約 0. 3 c M) を用いて選抜した場合よりも他の遺伝子を含む可能性が低い。

さらに、本発明者らは相補性試験を行うことにより、配列番号 2 7 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 に R f - 1 遺伝子が完全に含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号 2 7 の塩基配列又は配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 7 0 % 同一の塩基配列は、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である；及び
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

本発明者らはさらに、R f - 1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6、及び
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2。

上記塩基配列は、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応する。本発明の核酸はさらに、

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

5 p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

を含む。

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；  
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列  
10 番号 72 の塩基 1762；5) 配列番号 73 の塩基 1703；6) 配列番号 74  
の塩基 1779；7) 配列番号 80 の塩基 1783；8) 配列番号 81 の塩基 1  
729；9) 配列番号 82 の塩基 1781；10) 配列番号 83 の塩基 177  
4；11) 配列番号 84 の塩基 1728；及び 12) 配列番号 85 の塩基 164  
4 に相当する。よって、特に好ましくは、本発明の方法に使用する核酸は、好ま  
15 しくは、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 20 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である；
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である；
- 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である；
- 25 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である；又は
- 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

#### I V. イネの稔性の回復方法

本発明は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法を提供する。本発明の方法はまた、配列番号 27 の一部、特に、配列番号 27 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入してもよい。

本発明の方法は特に好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する。最も好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下の a) - p) の核酸から選択される：

- a) 配列番号 69 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；
- b) 配列番号 70 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸；
- c) 配列番号 71 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸；
- g) 配列番号 27 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸；
- h) 配列番号 80 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸；
- i) 配列番号 81 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸；
- j) 配列番号 82 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸；
- k) 配列番号 83 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸；
- l) 配列番号 84 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸；
- m) 配列番号 85 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸；

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ンジェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

5 p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

本発明において、イネに導入されうる稔性回復遺伝子 (R f - 1) 座を含む核酸は、先の「I I I. R f - 1 遺伝子座を含む核酸」において記載の核酸を使用しうる。核酸のイネへの導入方法は特に限定されず、公知の方法を使用することが可能である。本発明の核酸は公知の遺伝子工学的な方法によって導入しても、  
10 あるいは交配によっても導入してもよい。隣接する他の遺伝子の導入を防げる、育種年限を短縮できる、という観点より遺伝子工学的な方法の使用が好ましい。

遺伝子工学的手法による形質導入のためにはいかなる適切な発現系を使用してもよい。組換え発現ベクターは、適切な転写または翻訳制御ヌクレオチド配列、  
15 例えば、哺乳動物、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子由来のものなどに、機能可能であるように連結されている、本発明のイネに導入されうる稔性回復遺伝子 (R f - 1) を含む核酸を含む。

制御配列の例には、転写プロモーター、オペレーター、またはエンハンサー、mRNA リボソーム結合部位、並びに転写および翻訳開始および終結を調節する  
20 適切な配列が含まれる。ヌクレオチド配列は、制御配列が該 DNA 配列に機能的に関連しているとき、機能可能であるように連結されている。したがって、プロモーターヌクレオチド配列は、該プロモーターヌクレオチド配列が DNA 配列の転写を調節するならば、DNA 配列に、機能可能であるように連結されている。  
イネにおいて複製する能力を与える複製起点、および形質転換体を同定する選択  
25 遺伝子が、一般的に発現ベクターに取り込まれている。選択マーカーとしては、通常使用されるものを常法により用いることができる。例えばテトラサイクリン、アンピシリン、またはカナマイシンもしくはネオマイシン、ハイグロマイシンまたはスペクチノマイシン等の抗生物質耐性遺伝子などが例示される。

さらに、必要に応じて適切なシグナルペプチド（天然または異種性）をコードする配列を、発現ベクターに取り込んでもよい。シグナルペプチド（分泌リーダー）のDNA配列を、インフレームで本発明の核酸配列に融合させ、DNAがまず転写され、そしてmRNAがシグナルペプチドを含む融合タンパク質に翻訳されるようにしてもよい

本発明によればまた、本発明の遺伝子を含む組換えベクターが提供される。プラスミドなどのベクターに本発明の遺伝子のDNA断片を組み込む方法としては、例えば、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1. 53 (1989) に記載の方法などが挙げられる。簡便には、市販のライゲーションキット（例えば、宝酒造製等）を用いることもできる。このようにして得られる組換えベクター（例えば、組換えプラスミド）は、宿主細胞であるイネに導入される。

ベクターは、簡便には当業界において入手可能な組換え用ベクター（例えば、プラスミドDNAなど）に所望の遺伝子を常法により連結することによって調製することができる。本願発明の核酸断片を用いてイネに稔性を付与する場合には、特に、植物形質転換用ベクターが有用である。植物用ベクターとしては、植物細胞中で当該遺伝子を発現し、当該タンパク質を生産する能力を有するものであれば特に限定されないが、例えば、pBI221、pBI121（以上Clontech社製）、及びこれらから派生したベクターが挙げられる。また、特に単子葉植物たるイネの形質転換には、pIG121Hm、pTOK233（以上Hiei ら, Plant J., 6, 271-282 (1994)）、pSB424（Komari ら, Plant J., 10, 165-174 (1996)）などが例示される。

形質転換植物は、上述のベクターの $\beta$ -グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子の部位に本願発明の核酸断片を入れ替えて植物形質転換用ベクターを構築し、これを植物に導入することで調整することができる。植物形質転換用ベクターは、少なくともプロモーター、翻訳開始コドン、所望の遺伝子（本願発明の核酸配列ま

たはその一部)、翻訳終始コドンおよびターミネーターを含んでいることが好ましい。また、シグナルペプチドをコードするDNA、エンハンサー配列、所望の遺伝子の5'側および3'側の非翻訳領域、選抜マーカー領域などを適宜含んでもよい。プロモーター、ターミネーターは植物細胞で機能するものであれば特に限定されないが、構成的発現をするプロモーターとしては、上記ベクターに  
5 予め組み込まれている35Sプロモーターの他に、アクチン、ユビキチン遺伝子のプロモーターなどが例示される。

プラスミドを宿主細胞に導入する方法としては、一般に、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory  
10 Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1.74 (1989) に記載のリン酸カルシウム法または塩化カルシウム/塩化ルビジウム法、エレクトロポレーション法、エレクトロインジェクション法、PEGなどの化学的な処理による方法、遺伝子銃などを用いる方法などが挙げられる。植物細胞の場合は、例えばリーフディスク法  
15 [Science, 227, 129 (1985)]、エレクトロポレーション法 [Nature, 319, 791 (1986)] によって形質転換することができる。

特に植物への遺伝子導入法としては、アグロバクテリウムを用いる方法 (Horsch et al., Science, 227, 129 (1985)、  
20 Hiei et al., Plant J., 6, 271-282 (1994))、エレクトロポレーション法 (Fromm et al., Nature, 319, 791 (1986))、PEG法 (Paszkowski et al., EMBO J., 3, 2717 (1984))、マイクロインジェクション法 (Crossway et al., Mol. Gen. Gene  
25 t., 202, 179 (1986))、微小物衝突法 (McCabe et al., Bio/Technology, 6, 923 (1988)) などが挙げられる。所望の植物に核酸を導入する方法であれば特に限定されない。

一方、交配による導入の場合には、例えば、以下のようにして行うことが可能である。まず、Rf-1 供与親とジャポニカ品種とを交雑して得られたF<sub>1</sub>に、

ジャポニカ品種を戻し交雑する。得られた個体のなかから、S 1 2 5 6 4 T  
 s p 5 0 9 I 座がジャポニカ型ホモ、P 4 4 9 7 M b o I 座及びB 5 3 6 2 7  
 B s t Z 1 7 I 座がヘテロの個体を選別し、さらなる戻し交雑に供試する。得ら  
 れた個体のなかから、P 4 4 9 7 M b o I 座及びB 5 6 6 9 1 X b a I 座が  
 5 ヘテロ、B 5 3 6 2 7 B s t Z 1 7 I 座がジャポニカ型ホモの個体を選抜し、  
 さらなる戻し交雑に供試する。以後は、戻し交雑各世代で、P 4 4 9 7 M b o  
 I 座及びB 5 6 6 9 1 X b a I 座がヘテロの個体を選抜し、次の戻し交雑に供  
 試する、という工程を10回程度繰り返す。最後に、P 4 4 9 7 M b o I 座及  
 びB 5 6 6 9 1 X b a I 座がヘテロの個体を自殖させ、得られた個体から両座  
 10 がインディカ型ホモの個体を選抜することにより、P 4 4 9 7 M b o I 座から  
 B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの限定された染色体領域をR f - 1 供与親から引  
 き継ぐ回復系統を得ることができる。

本発明において、稔性回復遺伝子 (R f - 1) を含む核酸が単離されたこと  
 により、R f - 1 遺伝子を遺伝子工学の技術を用いてイネ品種に導入し、回復系統  
 15 を育成することが可能となった。本発明ではR f - 1 領域を先ず76 kb以下に  
 まで絞り込むことに成功した。よって本発明のR f - 1 遺伝子座を含む核酸は、  
 従来技術と比較して、R f - 1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性  
 が格段に低い。さらに、本発明はR f - 1 遺伝子を含む領域の全塩基配列を明ら  
 かにした。当業者は、本明細書の記載に基づきR f - 1 遺伝子自体の解析するこ  
 20 とが進めることができる。よって、隣接する遺伝子を全く含まずにR f - 1 遺伝  
 子のみを導入することも可能となった。これは、隣接遺伝子が劣悪形質をもたら  
 す遺伝子である場合に特に重要である。さらに、交雑の場合より早く、1～2年  
 の短期間での回復系統を育成も可能となった。

そして、本明細書中の実施例4-13及び17に記載の相補性試験では実際  
 25 に、図5に記載の10個のクローン由来の断片を用い、アグロバクテリウムを用  
 いる方法によりMSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほ  
 ぼ同一) を形質転換した。その結果、配列番号27の塩基38538-5412  
 3、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基4213



2-48883、さらにより好ましくは塩基42132-46318の塩基配列を含む核酸によって、稔性回復系統が育成されることが証明された。

限定されるわけではないが、アグロバクテリウムを用いるイネの回復系統の作成方法は、例えば、Hiei et al., Plant J., 6, p.

5 271-282 (1994)、Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996)、Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: p. 7347-7351 (1980) 等に記載されている。

10 先ず、所期の挿入したい核酸断片を含むプラスミドベクターを作成する。プラスミドベクターは、例えば、前記Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) らにプラスミドマップが記載されている、pSB11、pSB22等が使用可能である。あるいは、当業者は例えば前記pSB11、pSB22等のプラスミドベクターを基に、自ら適当なベクターを構築する事も可能である。本明細書後述する実施例では、pSB11を  
15 基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成して使用した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (Pubi-ubi I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (Tnos) を接続した。これより得られたPubi-ubi I-Tnos接続体のubi I-Tnos間に、ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HYG (R)) を挿入す  
20 ることにより、Pubi-ubi I-HYG (R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11 (Komariら、上述) のHindIII/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHindIII部位にNotI、NspV、EcoRV、KpnI、SacI、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー  
25 配列を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

次いで、挿入核酸を含む組換えベクターを用いて大腸菌 (例えばDH5 $\alpha$ 、JM109、MV1184等、いずれも例えばTAKARA社より購入可能) を形質転換する。

さらに、形質転換された大腸菌を用いて、アグロバクテリウム菌株を好ましくはヘルパー大腸菌株とともに、例えば、Ditt a et al (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行う。限定されるわけではないが、アグロバクテリウムは例えば、Agrobacterium tumefaciens 菌株 LBA4404/pSB1、LBA4404/pNB1、LBA4404/pSB3等を使用することが可能である。いずれも前述のKomari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) にプラスミドマップが記載されており、当業者は例えば自らベクター構築を行うことにより使用可能である。限定されるわけではないが、ヘルパー大腸菌は、例えばHB101/pRK2013 (クローンテック社より入手可能) 等が使用可能である。また、より一般的ではないがpRK2073を保有する大腸菌もヘルパー大腸菌として使用可能との報告がある (Lemas et al., Plasmid 1992, 27, p. 161-163)。

次いで、所期の交配が生じたアグロバクテリウムを用いて、例えば、Hieiet al (1994)の方法に準拠し、雄性不稔イネの形質転換を行う。形質転換に必要なイネ未熟種子は、例えば、雄性不稔イネにジャポニカ品種の花粉をかけることにより作成できる。

形質転換植物の稔性回復は、例えば出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査することによって調べることが可能である。立毛調査とは、圃場などで栽培されている状態で観察する方法である。あるいは、実験室で穂の稔実率を調べる稔実率調査を行ってもよい。

#### V. Rf-1 遺伝子の存在の有無の識別方法

本発明においてRf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が、イネ第10染色体上の約65 kbの多型検出用マーカー座P4497 Mb o IとB56691 Xba Iの間に存在することが明らかにされた。さらに、相補性試験により、配列番号27の塩基配列のうち、特に塩基38538-54123にRf-1 遺伝子が完全に含まれていることが確認された。

また、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種（I R 2 4）（配列番号 2 7）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号 2 8）および日本晴 B A C クローン A C 0 6 8 9 2 3）の塩基配列を比較し、両者に複数の多型（p o l y m o r p h i s m）が存在することが明らかになった。その結果、R f - 1 遺伝子近傍領域における塩基配列の多型を利用することにより、被  
5 検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを、簡便、迅速かつ正確に識別することが可能となった。

よって、本発明はまた、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列がイネ第 1 0 染色体上の多型検出用マーカー座 P 4 4 9 7 M b o I と B 5 6 6 9 1 X  
10 b a I の間に存在することを利用して、被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供する。

多型の検出は公知の任意の方法を使用して行うことが可能である。例えば、制限酵素断片長の多型（r e s t r i c t i o n f r a g m e n t l e n g t h  
15 h p o l y m o r p h i s m ; R F L P）を調べる方法、塩基配列の決定により直接的に決定する方法、ゲノム DNA を 8 塩基認識制限酵素で切断後、末端を放射能標識し、さらに、6 塩基および 4 塩基認識制限酵素で切断し、2 次元電気泳動で展開する方法（R L G S 法、R e s t r i c t i o n L a n d m a r k  
20 G e n o m e S c a n n i n g）等が知られている。さらに、R F L P をポリメラーゼ連鎖反応（P C R）によって増幅・検出する A F L P（a m p l i f i e d f r a g m e n t l e n g t h p o l y m o r p h i s m ; P.  
V o s, ら、N u c l e i c A c i d s R e s. V o l. 2 3, p. 4 4 0 7 - 4 4 1 4（1 9 9 5））分析も開発されている。

例えば、従来より以下に例示するような R F L P を P C R 増幅を用いて検出する方法（R F L P マーカーの P C R マーカー化）、マイクロサテライトの多型を  
25 P C R 増幅を用いて検出する方法（マイクロサテライトマーカー）が採用されてきた。

#### R F L P マーカーの P C R マーカー化

A. R F L P プローブ対応ゲノム領域の多型を利用して P C R マーカー化する方法（D. E. H a r r y, B. T e m e s g e n, D. B. N e a l e ; C

odominant PCR-based markers for Pinus taeda developed from mapped cDNA clones, Theor. Appl. Genet. (1998) 97: p. 327-336)。これは、RFLPマーカープローブ配列（「RFLP」は、  
 5 あるDNA断片をプローブに用いてサザン解析を行った場合に観察される多型である。プローブに用いたDNA断片の塩基配列を「RFLPマーカープローブ配列」と呼ぶ。）に対して設計したプライマーを用いてゲノムPCRを行った後、次の二方法のいずれかによりPCRマーカ化できる。第1は、産物を一連の制限酵素で処理し、断片長多型を生じる制限酵素を探索する手法であり、第2は、  
 10 産物の塩基配列を品種間比較して多型を探索し、その多型を利用してPCRマーカ化する方法である。

B. RFLP原因部位を同定してPCRマーカ化する方法。これは、RFLPマーカープローブ配列内あるいはその周辺（通常数kb以内）に存在するRFLP原因部位（比較する2品種の一方のみが持つ制限酵素認識部位）を同定する  
 15 ことにより、PCRマーカ化する方法である。

#### マイクロサテライトマーカ

マイクロサテライトとは、(CA)<sub>n</sub>のような2ないし4塩基程度の繰り返し配列であり、ゲノム中に多数存在している。繰り返し数に品種間多型がある場合、隣接領域に設計したプライマーを用いてPCRを行うと、PCR産物長に多  
 20 型が観察され、DNA多型を検出することが可能となる。マイクロサテライトを利用した多型検出マーカは、マイクロサテライトマーカと呼ばれている

(O. Parnaud, X. Chen, S. R. McCouch, , Mol. Gen. Genet. (1996) 252: p. 597-607)。

本発明において多型の検出方法は特に限定されない。効率、簡便性の観点より、PCRとRFLPを組み合わせ、比較する品種系統間において、PCRにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを決定するPCR-RFLP法が好ましい。PCR-RFLP法は、CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 法とも呼ばれる。  
 25

多型が見出される部位に適切な制限酵素認識部位が存在しない場合、PCRの際に制限酵素部位を導入するCAPSの修飾法、dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) も使用可能である (Michaels, S. D. and Amasino, R. M. (1998), The Plant Journal 14 (3) 381-385; A. Koniecznyら, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410; Neff, M. M., Neff, J. D., Chory, J. and Pepper, A. E. (1998), The Plant Journal 14 (3) 387-392)。以下、  
 10 より詳細に説明する。

#### CAPS法、dCAPS法

限定されるわけではないが、本発明の識別方法では

i) Rf-1 遺伝子座において、インディカ品種とジャポニカ品種の塩基配列において多型が見出される部位およびその隣接領域の塩基配列に基づいて、当該  
 15 塩基配列を増幅するようにプライマー対を作成し；

ii) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

iii) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて、被検定イネ個体又は種子がRf-1 遺伝子を有するか否かを判断する。

20 工程 i) におけるプライマー対の作成は、好ましくは

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合、当該欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；

25 b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；または

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域

を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；  
のいずれかの手段を含む。

- 5 限定されるわけではないが、本発明において、R f - 1 遺伝子の存在を識別するために利用可能な適当な多型部位は、例えば、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種（I R 2 4）（配列番号 2 7）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号 2 8）およびB A C クローン A C 0 6 8 9 2 3）の塩基配列を比較し、以下のように多型検出用マーカーの作成が可能となるように、適宜選択することができる。
- 10 例えば、見出された多型が制限酵素認識部位に差異を生じる場合、当該多型部位の両側に多型部位を挟むように核酸増幅プライマーを作成し、多型検出用に用いる。プライマーを設計する際は、不要な産物を避けるために、反復性の高い配列に対して設計しない方が好ましい。見出された多型が制限酵素認識に差異を生じない場合、記述の d C A P S 法を適用することにより、マーカーを作成すること  
15 ができる。d C A P S マーカーのプライマーを設計する際は、反復配列に対して設計しない方が好ましいことに加え、多型を識別しやすするため産物長が、好ましくは 5 0 - 3 0 0 塩基、より好ましくは 1 0 0 塩基程度となるようにするとよい。

- 見出された多型がマイクロサテライトに関するものであれば、当該マイクロサ  
20 テライトを挟むように核酸増幅用プライマーを作成し、多型検出用に用いる。この場合も、反復配列に対してプライマーを設計しない方が好ましい。

#### 1) 核酸増幅

- 本発明では、好ましくは、解明された被検定イネ個体又は種子の R f - 1 遺伝  
視座の核酸配列の塩基配列に基づいて、多型を含む隣接領域を増幅するようにプ  
25 ライマー対を作成する。当該プライマーを使用して、被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型に核酸増幅反応を行う。核酸増幅反応は好ましくは、複製連鎖反応（P C R）（サイキら、1 9 8 5, S c i e n c e 2 3 0, p. 1 3 5 0 - 1 3 5 4）である。

核酸増幅のためのプライマー対は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき公知の方法により作成することが可能である。具体的には、限定されるわけではないが、例えば、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき、以下の条件：

- 5        1) 各プライマーの長さが 15 – 30 塩基であること；
  - 2) 各プライマーの塩基配列中の G + C の割合が 30 – 70 % であること；
  - 3) 各プライマーの塩基配列中の A、T、G および C の分布が部分的に大きく偏らないこと；
  - 4) プライマー対によって増幅される核酸増幅産物の長さが 50 – 3000
  - 10   塩基、好ましくは 50 – 300 塩基であること；そして
  - 5) 各プライマー自身の塩基配列中、又はプライマー同士の塩基配列間に相補的な配列部分が存在しないこと
- を満たすように、多型部位およびその隣接領域の塩基配列と同じ塩基配列若しくは上記領域に相補的な塩基配列を有する一本鎖 DNA を製造し、または、必要であれば多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように修飾した上記一本鎖 DNA を製造する
- 15   ことを含む方法により、プライマー対を作成できる。

- 本発明において増幅される、多型部位の「隣接領域」とは、多型とその隣接領域の双方を含む領域が、好ましくは、PCR 法等の核酸増幅が可能な距離の範囲
- 20   内にあることを意味する。限定されるわけではないが、好ましくは増幅される隣接領域が約 50 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 50 塩基ないし約 2000 塩基の範囲内にある。多型を識別しやすするためは、産物長が好ましくは 50 – 300 塩基、より好ましくは 100 塩基程度となるようにするとよい。限定されるわけではないが、隣接領域は、多型部位の 5' 側または 3' 側に
- 25   好ましくは約 0 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 2000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 1000 塩基の範囲内にある。

核酸増幅反応の手順及び条件は特に限定されず、当業者に周知である。当業者は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列、プライマー対の塩基配列および長さ等の種々の要因に応じて適宜、条件を採用することが可能である。一般には、

プライマー対の長さが長い程、G + Cの割合が高いほど、A、T、GおよびCの分布の偏りが小さい程よりストリンジェントな条件（より高温でのアニーリング反応および核酸伸長反応、より少ないサイクル数）で核酸増幅反応を行うことが可能である。よりストリンジェントな条件の採用により、特異性の高い増幅反応が可能となる。

増幅反応は、限定されるわけではないが、例えば、鋳型として使用するゲノムDNA 50 ng、dNTP各200  $\mu$ M、ExTaq<sup>TM</sup>（TAKARA）5 Uを使用し、例えば、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うことができる。あるいは、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。あるいは、別の態様においては、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとして35サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。

PCRの鋳型として使用する被検定イネゲノムのDNAは、Edwardsら（Nucleic Acids Res. 8（6）：1349，1991）の方法で、個体又は種子より簡易に抽出することができる。より好ましくは、標準的な方法により精製したDNAを用いるのがよい。CTAB法（Murray M. G.， et al.， Nucleic Acids Res. 8（19）：4321-5，1980）は、特に好ましい抽出法である。PCRを行うための鋳型として使用するDNAの濃度は、終濃度で0.5 ng/ $\mu$ l が好ましい。

## 2) 多型検出用マーカの作成

上記プライマー対を用いた核酸増幅反応により、増幅産物に多型が検出されるか否かを調査し、見出された多型に基づいて多型検出用マーカを作成する。限定されるわけではないが、増幅産物に検出されうる多型としては以下のようなものがある。



a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合

このような場合、欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。欠失領域の大きさが十分な場合、例えば増幅産物をアガロースゲル電気泳動又はアクリルアミドゲル電気泳動等することにより、泳動度の差により多型の検出が可能である。例えば、アガロースゲル電気泳動の場合には塩基対数に約5%以上の差がある場合、シーケンス用アクリルアミドゲル電気泳動の場合には約1塩基以上長さに差がある場合検出可能である。または、欠失領域外の塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチド若しくはDNA断片を解析用プローブとして、核酸増幅産物に対してハイブリダイゼーションを行うことにより、多型を検出することができる。あるいは、必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。核酸の電気泳動、ハイブリダイゼーション、塩基配列の決定等は公知の方法を使用でき、当業者は適宜採用可能である。このような場合は、増幅産物の長さの相違が直接多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをALP (amplicon length polymorphism) マーカーと言う。

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。このような場合、核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する、即ち、核酸増幅産物中に、特定の1または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。

このような場合、PCR等による増幅産物の制限酵素断片の長さの相違が多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをCAPSマーカーまたはPCR-RFLPマーカーという (A. Koniecznyら, 上述)。

後述する実施例1のプライマー対P4497 MboI、P23945 MboI、P41030 TaqI、P45177 BstUI、B59066 B

s a J I 及び B 5 6 6 9 1 X b a I がこのような場合に相当する。なお、前記 a) の核酸増幅産物の長さで多型を検出可能な場合であっても制限酵素処理を併用することにより、多型がより検出しやすくなる場合がある。

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が

5 存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。

具体的には、天然の R f - 1 遺伝子近傍領域の塩基配列に基づくプライマー対  
10 では核酸増幅産物に多型を生じるが制限酵素認識に差異を生じないため、片方のまたは双方のプライマーにミスマッチを導入し、当該塩基置換部位（多型）を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更する。例えば、P C R 法を用いた部位特異的変異の導入による特定ヌクレオチドの置換、欠失又は付加の一般的な技術は、例えば M i k a e l i a n ら、N u c  
15 l . A c i d s . R e s . 2 0 : 3 7 6 . 1 9 9 2 に記載された方法を用いることができる。上記ミスマッチ導入プライマーを多型検出用マーカーとして用いた増幅産物では、ミスマッチ導入部位において制限酵素認識に差異を有するため、核酸増幅産物中に、特定の 1 または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、上述の b) の場合と同様に得られた増幅産物を制限酵  
20 素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。

ミスマッチの導入は、プライマーの標的植物ゲノムへの結合性を失わせず、また、多型を生じている塩基置換を変化させるものであってならない。多型を生じている塩基置換を利用してその近傍にミスマッチを導入して、塩基置換とミス  
25 マッチの双方の組み合わせにより制限酵素認識に差異が生じるようにする。このようなミスマッチの導入法は当業者に公知であり、例えば、M i c h a e l s , S . D . and A m a s i n o , R . M . ( 1 9 9 8 ) 、 N e f f , M . M . , N e f f , J . D . , C h o r y , J . and P e p p e r , A . E . ( 1 9 9 8 ) 等に詳述されている。

このような場合のマーカ―は、前述のb)のCAPSマーカ―の改良であり、dCAPS (d e r i v e d C A P S) マーカ―という。後述する実施例3のP9493 B s l Iがこのような場合に相当する。

- 5      なお、上記のb)またはc)の場合において、品種間の多型とは無関係の余分な制限酵素部位が多く存在すると、多型に基づく制限酵素部位認識の相違が識別しにくくなる場合がある。このような場合、必要に応じプライマーにミスマッチを導入し、不必要な制限酵素部位をつぶしてもよい。例えば、実施例3のB60304 M s p Iでは、Rプライマーにミスマッチを導入して多型と無関係なM s p I部位をつぶしている。
- 10     限定されるわけではないが、CAPS法又はdCAPS法は、他のRFLP法等と比較していくつかの利点を有する。具体的には、例えば、RFLP法と比較して、少量のサンプルで分析できる。分析に要する時間および労力を大きく軽減できる、といった利点がある。マイクロサテライトマーカ―と比較しても、作成したPCRマーカ―の多型検出がアクリルアミド電気泳動よりも容易なアガロース
- 15     ゲル電気泳動で行えるという利点がある。

#### 本発明の識別方法の好ましい実施態様

- 以下、例示のために本発明の被検定イネがRf-1遺伝子を有するか否かを識別する方法の好ましい態様を記載する。本明細書の実施例においてRf-1遺伝子を有するインディカ型品種IR24の塩基配列（配列番号27）において、ジャポニカ型品種の対応する領域と比較した結果、少なくとも以下の1) - 8)の多型を有することを見出した。
- 20

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 25   4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び
- 8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基がGである。

よって、本発明の好ましい実施態様において、上記 1) - 8) の条件のいずれか 1 つないし全部を満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する。

さらに、本発明者らは配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 -  
 5 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基  
 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 に  
 R f - 1 遺伝子の機能発現に必須の領域が含まれていることを確認した。よっ  
 て、本発明の一態様において、配列番号 27 の塩基配列又は配列番号 27 の塩基  
 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 70 % 同一の塩基配列が、以  
 下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に、被検定イネの個体又は  
 種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する：

- 1) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である；及び
- 2) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

上記の条件を満たすか否かは、公知の多型の検出方法を使用することが可能で  
 ある。上記配列を含む隣接領域の塩基配列を直接決定してもよい。しかしなが  
 ら、迅速性、簡便性の観点より、上述した CAPS 法又は dCAPS 法を採用す  
 ることが好ましい。CAPS 法又は dCAPS 法は、例えば以下のように行うこ  
 とが可能である。

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基；
- 6) 配列番号 27 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基；
- 7) 配列番号 27 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基；及び
- 8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するよ  
 うにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子の有無を識別する。

5      核酸増幅反応産物の多型の検出は、限定されるわけではないが、例えば以下の1) - 8) の1つないし全てを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する、ことにより行う。

1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基を含む領域が、MboI認識配列を有しない；

10      2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基を含む領域が、BslI認識配列を有しない；

3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基を含む領域が、MboI認識配列を有する；

15      4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基を含む領域が、TaqI認識配列を有しない；

5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基を含む領域が、BstUI認識配列を有しない；

6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基を含む領域が、MspI認識配列を有しない；

20      7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基を含む領域が、BsaJI認識配列を有しない；及び

8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基を含む領域が、XbaI認識配列を有しない。

25      ただし、上記1) - 8) の領域の各多型を検出可能な制限酵素であれば、上記に限定されるものではない。

本発明の識別方法は、好ましくは、

i) 以下のいずれかの塩基、

1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基；又は

2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基；

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

- 5 i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子の有無を識別する。限定されるわけではないが、工程i i i) が、以下の条件1) 及び2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する：

10 1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；及び

2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基を含む領域が、BstUI 認識配列を有しない。

上記の配列番号27の塩基45461は、1) 配列番号69の塩基1769；  
2) 配列番号70の塩基1767；3) 配列番号71の塩基1772；4) 配列  
15 番号72の塩基1762；5) 配列番号73の塩基1703；6) 配列番号74  
の塩基1779；7) 配列番号80の塩基1783；8) 配列番号81の塩基1  
729；9) 配列番号82の塩基1781；10) 配列番号83の塩基177  
4；11) 配列番号84の塩基1728；及び12) 配列番号85の塩基164  
4に相当する。

- 20 増幅反応に使用するプライマー対は、配列番号27の塩基配列に基づき、好ましくは前述した条件を満たすように当業者が適宜選択可能である。好ましくは、配列番号39及び40、配列番号41及び42、配列番号43及び44、配列番号45及び46、配列番号47及び48、配列番号49及び50、配列番号51及び52、並びに配列番号53及び54からなるグループから選択される塩基配  
25 列を有するいずれかのプライマー対を使用する。より好ましくは、プライマー対は、配列番号45及び46、並びに配列番号47及び48からなるグループから選択される。または、必要であれば上記プライマー対の配列に基づき、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように置換、欠失又は付加を施した配列をプライマーとして採用することも可能である。

得られたPCR産物を、制限酵素断片長多型に関して調べるため、それぞれのPCRマーカーに存在する制限部位に対応する制限酵素で切断する。この切断は、用いる制限酵素の推奨反応温度で数時間～一昼夜インキュベーションすることにより行う。制限酵素で切断したそれぞれの増幅PCRサンプルは、例えば約0.7%ないし2%アガロースゲルあるいは約3%のMetaPhor<sup>TM</sup>アガロースゲルで電気泳動することにより解析する。例えば、ゲルをエチジウムブロマイド中紫外線下で可視化する。

本発明の最も好ましい態様において、制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用するプライマー対に応じて、以下の表2のようなバンドの存在の有無が確認される。

表 2

				検出されるバンドの およそのサイズ (bp)
P 4 4 9 7    M o b I による増幅    制限酵素    M b o I				
(配列番号 3 9 および 4 0)				
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				7 3 0
有しない場合:				3 8 5、3 4 5
P 9 4 9 3    B s l I による増幅    制限酵素    B s l I				
(配列番号 4 1 および 4 2)				
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				1 2 6
有しない場合:				1 0 0、2 6
P 2 3 9 4 5    M b o I による増幅    制限酵素    M b o I				
(配列番号 4 3 および 4 4)				
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				1 6 0、1 0 0
有しない場合:				2 6 0





を含めた 14 種の多型マーカーを使用して、R f - 1 領域の染色体構成を調べた。その結果、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の R f - 1 遺伝子を有することが確認された。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、R f - 1 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 65 kb）に、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

10      なお、本発明では、交雑による個体の出現頻度から S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と R f - 1 座とが非常に近接しているとの予測に基づき、染色体歩行を始めた。実際、本発明の高精度分離分析の結果、両座の遺伝的距離は約 0.04 cM と算出された。現在公知となっている R f - 1 座連鎖マーカーのなかで、最も密接に連鎖しているマーカーは、先述の特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 に記載されているマーカーのひとつであるが、そのマーカーでも R f - 1 座との遺伝的距離は 1 cM と記載されている。イネの場合、平均すると 1 cM は 300 kb に相当すると考えられており、特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 のマーカーを起点に染色体歩行を開始したのでは、R f - 1 遺伝子領域の絞込みに相当の時間を要したと考えられる。

## V I . R f - 1 遺伝子の稔性回復機能の抑制方法

本発明において、稔性回復機能を有する核酸を含む、稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸が単離され、その全塩基配列が決定されたことにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を遺伝子工学的に制御することが可能となった。よって、本発明は、さらに、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供する。

本発明の R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、例えば、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列

から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、一態様において、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-5  
 5 3743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883、さらにより好ましくは塩基42132-46318の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択  
 10 される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、特に、好ましい一態様において、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機  
 15 能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

最も好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下のa)-p)の核酸から選択される：

- 20 a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- 25 f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 配列番号80の塩基229-2601を含む核酸；
- i) 配列番号81の塩基175-2547を含む核酸；
- j) 配列番号82の塩基227-2599を含む核酸；

k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸；

l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸；

m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸；

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、か

5 つ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハイ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

10

アンチセンスは、少なくとも 100 塩基以上、より好ましくは 500 塩基以上、最も好ましくは 1000 塩基以上の長さである。導入の技術上の簡便性等の観点より、好ましくは 10000 塩基以下、より好ましくは 5000 塩基以下である。アンチセンスは、公知の方法により合成することが可能である。アンチセンスのイネへの導入は公知の方法により、例えば、T e r a d a e t a l . ( P l a n t C e l l P h y s i o l . 2 0 0 0 J u l , 4 1 ( 7 ) , p . 8 8 1 - 8 8 8 ) に記載の方法により行うことが可能である。

15

また、限定されるわけではないが、T o s l 7 ( H i r o c h i k a H . e t a l . 1 9 9 6 , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 3 , p . 7 7 8 3 - 7 7 8 8 ) などの転移因子の挿入変異系統のなかから、配列番号 27 の塩基配列内に転移因子が挿入された系統を選抜することにより、R f - 1 が破壊された系統を育成することも可能であると考えられる。さらに、植物においても相同組換えにより遺伝子破壊が研究されている。その系の確立により、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、または配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70% 同一である核酸を用いて、R f - 1 遺伝子を変異型 R f - 1 遺伝子に置換することにより、稔性回復機能を抑制することも可能であると考えられる。

25

#### 参考文献

1. Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed.  
d. 42 (supl. 1) p. 164-165
2. 特開平7-222588
3. 特開平9-313187
- 5 4. 特開2000-139465
5. Harushima et al. 1998, Genetics  
148 p. 479-494
6. Michaels and Amasino 1998, The  
Plant Journal 14 (3) p. 381-385
- 10 7. Neff et al. 1998, The plant Jou  
rnal 14 (3) p. 387-392
8. D. E. Harry, et al., Theor Appl  
Genet (1998) 97: p. 327-336
9. Hiei et al., Plant Journal (199  
15 4), 6 (2), p. 272-282
10. Komari et al., Plant Journal (19  
96) 10, p. 165-174
11. Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sc  
i. USA (1980), 77: p. 7347-7351
- 20 12. P. Vos, ě, Nucleic Acids Res. Vo  
l. 23, p. 4407-4414 (1995)
13. O. Parnaud, X. ě, Mol. Gen. Genet. (1  
996) 252: p. 597-607
14. A. Konieczny ě, (1993), Plant J. 4  
25 (2) p. 403-410
15. Edwards ě, Nucleic Acids Res. 8  
(6): 1349, 1991
16. Murray M. G. ě, Nucleic Acids Re  
s. 8 (19): 4321-5, 1980

17. Terada et al., Plant Cell Physiology, 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888

18. Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788

5 19. Cui, X., Wise, R. P. and Schanbl e, P. S. (1996) The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. Science, 272, 1334-1336

10 20. Liu, F., Cui, X., Horner, H. T., Weiner, H. and Schnable, P. S. (2001) Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. The Plant Cell, 13, 1063-1078

15

#### 実施例

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の技術的範囲を限定するためのものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

20

#### 参考例

以下の参考例は、本出願人の先の特許出願 特願2000-247204 (2000年8月17日出願) に記載された実施例に基づく。

#### 参考例1 Rf-1 遺伝子座周辺RFLPマーカーのPCRマーカー化

25 本参考例においては、Rf-1 遺伝子座周辺RFLPマーカー9個 (R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、G2155) をPCRマーカー化した。

#### (1) 材料および方法

R f - 1 遺伝子座周辺 R F L P マーカー 9 個 ( R 1 8 7 7、G 2 9 1、R 2 3 0 3、S 1 2 5 6 4、C 1 3 6 1、S 1 0 0 1 9、G 4 0 0 3、S 1 0 6 0 2、G 2 1 5 5 ) を農林水産省農業生物資源研究所から購入し、ベクター内の挿入塩基配列を決定した後、以下の手順で実験を行った。なお、本文中のイネ品種のうち、あそみのりはジャポニカ米であり、I R 2 4 はインディカ米である。

## (2) ゲノミックライブラリーの作製

あそみのりの緑葉から、C T A B 法により各々トータルDNAを抽出した。M b o I で部分消化後、N a C l 密度勾配遠心 ( 6 ~ 2 0 % 直線勾配、2 0 ° C、3 7 0 0 0 r p m、4 時間、全容量 1 2 m l ) によりサイズ分画を行った。各分画 ( 約 0. 5 m l ) の一部を電気泳動にかけ、1 5 ~ 2 0 k b のDNAを含む分画を選抜・精製した。ライブラリーの作製は、L a m b d a D A S H I I ( S t r a t a g e n e ) をベクターに用いて、付属プロトコールに準拠して行った。パッケージングには、G i g a P a c k I I I G o l d ( S t r a t a g e n e ) を用いた。パッケージング後、S M B u f f e r 5 0 0  $\mu$  l およびクロロフォルム 2 0  $\mu$  l を添加した。遠心後の上清にクロロフォルム 2 0  $\mu$  l を添加し、ライブラリー溶液とした。

ライブラリー溶液の 5 0 倍希釈液 5  $\mu$  l を用いて、X L - 1 B l u e M R A ( P 2 ) に感染させた。その結果、あそみのりについては 8 3 個のプラークが出現した。ライブラリーあたりでは、 $4. 1 5 \times 1 0^5$  p f u となり、平均挿入断片長を 2 0 k b とすると、 $8. 3 \times 1 0^9$  b p をカバーする計算になる。これは、イネゲノム (  $4 \times 1 0^8$  b p ) に対して十分な大きさのライブラリーであると考えられた。

## (3) R 1 8 7 7、C 1 3 6 1 および G 4 0 0 3 対応ゲノミッククローンの単離

C 1 3 6 1 および G 4 0 0 3 については、R F L P マーカープローブを含むプラスミドを単離した後、制限酵素処理・電気泳動により、R F L P マーカープローブ部分を分離し、DNA回収フィルター ( T a k a r a S U P R E C - 0 1 ) を用いて目的のDNAを回収した。R 1 8 7 7 については、マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレー

トにPCRを行い、産物を電気泳動後、前述の方法で回収した。回収したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブとした。なお、PCRは常法により行った（以下、同様）。

5      ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N+ (Amersham Pharmacia) にプロットした後、常法により行った。1stスクリーニング後、陽性プラーク周辺を打ち抜き、SMバッファーに懸濁し、2ndスクリーニングに供試した。2ndスクリーニング後、陽性プラークを打ち抜き、さらに3rdスクリーニングを行い、単一プラークを分離した。

10      分離した目的プラークをSMバッファーに懸濁後、プレートライセート法によりファージを一次増殖した。得られたファージ増殖液を用いて、振とう培養法により二次増殖を行った後、Lambda starter kit (QIAGEN) を用いてファージDNAを精製した。

15      各マーカーについて、8枚のプレートを用いて1stスクリーニングを行った。プレート1枚につきライブラリー溶液を10 $\mu$ l使用した。3rdスクリーニングまで行った結果、R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンを、それぞれ、4個、3個および3個単離した。

#### (4) R1877のPCRマーカー化

20      単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、IR24 (インディカ米) には存在しあそみのり (ジャポニカ米) には存在しないEcoRI部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

25      具体的には、単離した4クローンについて以下の解析を行った。まず、T3およびT7プライマーを用いて、各クローンの挿入断片の両末端の塩基配列を明らかにした。つぎに、マーカープローブ両端部に対して外向きのプライマーを設計し、T3およびT7プライマーと組合わせ（合計4プライマー組合せ）、各クローンをテンプレートにPCRを行った。

また、各クローンをNotIおよびEcoRIで消化した後、電気泳動することにより、挿入断片長および各EcoRI断片長を推定した。

これらの解析の結果、各クローンの位置関係を明らかにすることができた。一方、RFLP解析ではマーカープローブR1877により日本晴（ジャポニカ米）では20kb、Kasalath（インディカ米）では6.4kbのEcoRI断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG）ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、IR24には存在しあそみのりには存在しないEcoRI部位のおおよその位置が推定できた。そこで、その周辺を増幅するように設計したプライマー組合せ（配列番号1と配列番号2）を用いて、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてゲノミックPCRを行った。得られたPCR産物をEcoRI処理した後、0.7%アガロースゲルで電気泳動した。

その結果、あそみのり-IR24間で期待通りの多型が観察された。すなわち、PCR産物（約3200bp）のEcoRI処理により、IR24では1500bpと1700bpとに切断されるのに対し、あそみのりでは切断されなかった。あそみのり-IR24のRIL（Recombinant Inbred Line）を用いてこのPCRマーカーをマッピングした結果、RFLPマーカー座R1877と同一領域に位置づけられ、RFLPマーカーR1877がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR1877 EcoRIと命名した。

#### （5）G4003のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、あそみのりには存在しIR24には存在しないHindIII部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

R1877と同様の解析を行い、単離した3クローンの位置関係を明らかにした。RFLP解析ではマーカープローブG4003により日本晴（ジャポニカ米）では3kb、Kasalathでは10kb（インディカ米）のHindIII断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10



／R 1 8 7 7. J P G) ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、あそみのりには存在し I R 2 4 には存在しない H i n d I I I 部位が、2 個の候補部位のいずれかであると推定された。そこで、各 H i n d I I I 部位周

- 5 を用いて、9 4℃にて3 0 秒、5 8℃にて3 0 秒、7 2℃にて3 0 秒を1 サイクルとし3 5 サイクルの条件で、ゲノミック P C R を行った。得られた P C R 産物を H i n d I I I 処理後、2 % アガロースゲルで電気泳動したところ、マーカープロンプ内部の H i n d I I I 部位が多型部位であることが示された。すなわち、P C R 産物 ( 3 6 2 b p ) の H i n d I I I 処理により、あそみのりでは9
- 10 5 b p と 2 6 7 b p とに切断されるのに対し、I R 2 4 では切断されなかった。マッピングの結果、R F L P マーカー G 4 0 0 3 が P C R マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを G 4 0 0 3 H i n d I I I ( 配列番号 1
- 9 ) と命名した。

#### ( 6 ) C 1 3 6 1 の P C R マーカー化

- 15 単離したゲノミッククローンの塩基配列情報に基づいてプライマーを設計した。あそみのりおよび I R 2 4 のトータル DNA をテンプレートに P C R を行い、産物を電気泳動後、既述の方法で回収した。回収した DNA をテンプレートに用いて、A B I M o d e l 3 1 0 により各品種の塩基配列を解読し、多型作出に利用可能な変異を探索した。

- 20 R 1 8 7 7 と同様の解析を行い、単離した 3 クローンのおおよその位置関係を明らかにすることはできた。しかし、C 1 3 6 1 マーカー周辺には P C R 増幅しにくい領域や塩基配列を解読できない領域が存在することが明らかになり、R F L P 原因部位を同定することは困難であると考えられた。そこで、比較的長い P C R 産物 ( 2 . 7 k b ) が得られる領域に着目し、d C A P S 化を試みることに
- 25 した。

具体的には、あそみのり、コシヒカリ ( 以上、ジャポニカ米 ) 及び K a s a l a t h 、 I R 2 4 ( 以上、インディカ米 ) を用いて、前記領域のゲノミック P C R 産物の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米・インディカ米間で多型を示す部位を 6 ヶ所見出すことができた。そのうちのひとつについて、d C A P S 化を

行った。この過程で、プライマーとして配列番号 5 および配列番号 6 を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwo I 処理後、3% MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。

5 あそみのりでは2箇所切断され、約25bp、50bp、79bpのバンドが観察され、IR24では1箇所切断され、約50bp、107bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーC1361がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをC1361 Mwo I (配列番号20) と命名した。

#### 10 (7) G2155のPCRマーカー化

マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216 (戻し交雑によりコシヒカリにRf-1遺伝子を導入した系統、遺伝子型はRf-1/Rf-1) のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、Rf-1遺伝子保有品種系統 (IR24およびIL216) とRf-1遺伝子非保有品種系統 (あそみのりおよびコシヒカリ) との間の変異が3ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号7及び配列番号8を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwo I 処理後、3% MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは1箇所切断され、約25bp及び105bpのバンドが観察され、IR24では2箇所切断され、約25bp、27bp及び78bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーG2155がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG2155 Mwo I (配列番号21) と命名した。

#### (8) G291のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、種々のプライマー組合わせでPCRを行い、期待される大きさの増幅産物が得られるプライマー組合わせを探索した。探索により見出したプライマー組合わせで、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

具体的には、マーカープローブ配列に対して設計したプライマーを用いて、供試品種のゲノミックPCRを行い、産物の塩基配列を比較した。その結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が4ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号9及び配列番号10を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMspI処理後、3%MetaPhor<sup>TM</sup>アガロースで電気泳動することにより解析した。Rf-1遺伝子保有品種系統では2箇所切断され、約25bp、49bp及び55bpのバンドが観察され、Rf-1遺伝子非保有品種系統では1箇所切断され、約25bp及び104bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーク291がPCRマーカークに変換されたことが証明され、このマーカークをG291 MspI（配列番号22）と命名した。

#### (9) R2303のPCRマーカーク化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、あそみのり（ジャポニカ米）、IR24およびKasalath（インディカ米）のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、BslI認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカークとした。この過程で、プライマーとして配列番号11及び配列番号12を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サ

イクルとし 30 サイクルの PCR 条件にて PCR を行った。得られた PCR 産物を B s l I 処理後、2 % アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では 1 箇所切断され、約 238 b p 及び 1334 b p のバンドが観察され、インディカ米では 2 箇所切断され、約 238 b p、655 b p 及び 679 b p のバンドが観察された。マッピングの結果、RFLP マーカー R2303 が PCR マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを R2303 B s l I (配列番号 23) と命名した。

#### (10) S10019 の PCR マーカー化

S10019 の PCR マーカー化は、上記 R2303 の PCR マーカー化の方法 (9) にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s t U I 認識部位に生じていたので、そのまま CAPS マーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号 13 及び配列番号 14 を用い、94℃にて 1 分、58℃にて 1 分、72℃にて 1 分を 1 サイクルとし 30 サイクルの PCR 条件にて PCR を行った。得られた PCR 産物を B s t U I 処理後、2 % アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では 1 箇所切断され、約 130 b p 及び 462 b p のバンドが観察され、インディカ米では 2 箇所切断され、約 130 b p、218 b p 及び 244 b p のバンドが観察された。マッピングの結果、RFLP マーカー S10019 が PCR マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを B s t U I (配列番号 24) と命名した。

#### (11) S10602 の PCR マーカー化

S10602 の PCR マーカー化は、上記 R2303 の PCR マーカー化の方法 (9) にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、CAPS 化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号 15 及び配列番号 16 を用い、94℃にて 1 分、58℃にて 1 分、72℃にて 1 分を 1 サイクルとし 33 サイクルの PCR 条件にて PCR を行った。得られた PCR 産物を K p n I 処理後、2 %

アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約117bp及び607bpのバンドが観察され、インディカ米では切断されず、724bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS10602がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを

5 S10602 KpnI（配列番号25）と命名した。

（12）S12564のPCRマーカー化

S12564のPCRマーカー化は、R2303のPCRマーカー化の方法にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号17及び配列番号18を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をTsp509I処理後、3%MetaPhor™アガロースで電気泳動することにより解析し

10 た。ジャポニカ米では2箇所切断され、26bp、41bp及び91bpのバンドが観察され、インディカ米では1箇所切断され、41bp及び117bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS12564がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをS12564 Tsp509I（配列番号26）と命名した。

## 20 参考例2 Rf-1遺伝子座のマッピング

MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリの花粉をかけて作成したF1集団1042個体の幼苗からDNAを抽出し、分析に供試した。ここで、MSコシヒカリとは、細胞質をBT型雄性不稔細胞質に置換したコシヒカリである（世代：BC10F1）。また、MS-FRコシヒカリとは、IR8（農業生物資源研究所より入手）に由来するRf-1遺伝子をMSコシヒカリに導入した系統である（Rf-1遺伝子座ヘテロ）。

25

まず、Rf-1遺伝子座を挟むと考えられる、参考例1に記載の2個のマーカー座R1877 EcoRIおよびG2155 MwoIにおける各個体の遺伝子型を調査した。R1877 EcoRI座またはG2155 MwoI座

に関してジャポニカ米型ホモ個体を、これら2マーカー座間での組換え体とみなした。つぎに、各組換え体について、さらに、G291 MspI座、R2303 BslI座、S12564 Tsp509I座、C1361 MwoI座、S10019 BstUI座、G4003 HindIII座およびS10602 KpnI座の遺伝子型を調査し、組換え位置を同定した。

R1877 EcoRI座およびG2155 MwoI座に関する遺伝子型調査の結果、稔性を回復した46個体がRf-1遺伝子座付近での組換え体であることが明らかになった。これら組換え体について、Rf-1遺伝子座近傍マーカー座の遺伝子型を調査した結果を表3に示す。

10

表3 Rf-1 座近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
R1877 EcoRI	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
G291 MspI	H	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
R2303 BslI	H	H	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S12564 Tsp509I	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
C1361 MwoI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S10019 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H
G4003 HindIII	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
S10602 KpnI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
G2155 MwoI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	J	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H
	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ

H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

表 3 に示されたように、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I マーカーがジャポニカ型である個体 8 と、C 1 3 6 1 M w o I 座マーカーがジャポニカ型である個体 9 および個体 1 0 が得られた。いずれも稔性を回復した個体であることから、前者は R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体と解し、R f - 1 遺伝子は S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に存在することが判明した。上記交配において、B T 型雄性不稔細胞質を持つ個体では、R f - 1 遺伝子をもつ花粉のみが受精能力を持つとの報告 (C. S h i n j y o, J A P A N. J. G E N E T I C S V o l. 4 4, N o. 3 : 1 4 9 - 1 5 6 ( 1 9 6 9 ) ) に基づいて、R f - 1 遺伝子座を詳細連鎖地図上に位置づけることができた (図 4)

#### 実施例 1 R f - 1 座極近傍組換え個体の獲得

(材料および方法)

MS コシヒカリ (世代 : B C 1 0 F 1) に MS - F R コシヒカリ (世代 : B C 9 F 1, R f - 1 座ヘテロ) の花粉をかけて作成した B C 1 0 F 1 集団 4 1 0 3 個体を用い、各固体から DNA を抽出し、上記参考例 2 と同様に、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座および C 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型を調査した。S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換えにより生じた個体とみなし、C 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換えにより生じた個体とみなした。

(結果および考察)

4 1 0 3 個体を調査した結果、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を 6 個体見出した。一方、上記参考例 2 において交配により得られた 1 0 4 2 個体を調査した結果、表 3 に示したように、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を 2 個体見出している。

合計すると、5145個体から、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を2個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を8個体獲得できたことになる。これら10個体を以下の実施例における高精度分離分析に供試することにした。

## 5 実施例2 染色体歩行

### (1) 1回目染色体歩行

#### (材料および方法)

ジャポニカ品種あそみのり (Rf-1非保有品種) のゲノムDNAを用いて、参考例1に記載したようにLambda DASH IIベクターによりゲノミックライブラリーを作成し、染色体歩行に供試した。

RFLPプローブ S12564の部分塩基配列 (アクセッション番号D47284) に対して次のプライマー対:

5' -atcaggagccttcaaattgggaac-3' (配列番号29) および

5' -ctcgcaaattgcttaattttgacc-3' (配列番号30)

を設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia社) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブA、図1) とした。

ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia社) にプロットした後、常法により行った。単一プラークを分離した後、Lambda Midi kit (QIAGEN社) を用いてプレートライセート法によりファージDNAを精製した。

### 25 (結果および考察)

スクリーニングにより4個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSA1およびWSA3) は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSA1



およびWSA3に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した（DNAシーケンサー377、ABI社）。

（2）2回目染色体歩行

（材料および方法）

- 5 既述のあそみのりゲノミックライブラリーに加え、インディカ品種IR24（Rf-1保有品種）のゲノムDNAから同様に作成したIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

（1）で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

5' - tgaaggagttaatgggtgcgtgacg - 3' （配列番号31）および

- 10 5' - ttgccgagcacacttgccatgtgc - 3' （配列番号32）

を設計し、WSA3のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた524bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブE、図1）とした。

- 15 ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

（結果および考察）

- 20 あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ（WSE8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSE8に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

- 25 IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより7個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSE1およびXSE7）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSE1およびXSE7に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

（3）3回目染色体歩行

（材料および方法）

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(2) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

5' - gcgacgcaatggacatagtgctcc - 3' (配列番号 33) および

5' - ttacctgccaagcaatatccatcg - 3' (配列番号 34)

を設計し、WSE 8 の DNA をテンプレートに用いて、定法に従い PCR を行った。得られた 1159 bp の増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブ F、図 1) とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージ DNA の精製は、既述の方法で行った。

(結果および考察)

10 あそみのりゲノミックスライブラリースクリーニングにより 8 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSF 5 および WSF 7) は図 1 に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSF 5 および WSF 7 に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

15 IR 24 ゲノミックスライブラリースクリーニングにより 13 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (XSF 4 および XSF 20) は図 1 に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSF 4 および XSF 20 に対応する IR 24 ゲノム塩基配列を決定した。

20 (4) 4 回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックスライブラリーおよび IR 24 ゲノミックスライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(3) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対してプライマー対：

25 5' - aaggcatactcagtgagggaag - 3' (配列番号 35) および

5' - ttaacctgaccgcaagcacctgtc - 3' (配列番号 36)

を設計し、WSF 7 の DNA をテンプレートに用いて、定法に従い PCR を行った。得られた 456 bp の増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブ G、図 1) とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより6個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ(WSG2およびWSG6)は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSG2およびWSG6に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより14個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちの3クローン(XSG8、XSG16およびXSG22)は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSG8、XSG16およびXSG22に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

(5) 5回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

本発明者らは、TIGR(The Institute for Genomic Research)の公開ホームページを閲覧し、RFLPマーカーS12564を包含するBAC(Bacterial Artificial Chromosome)クローン(アクセッション番号AC068923)が公開データベース(GenBank)に登録されていることを見出した。このBACクローンは、ジャポニカ品種日本晴のゲノムDNAを含むものであり、塩基配列を比較したところ、(1) - (4)で作成したあそみのりおよびIR24のコンテ

25 そこで、このBACクローンの一部を増幅する次のプライマー対:

5' - tggatggactatgtggggtcagtc - 3' (配列番号37) および

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' (配列番号38)

を設計し、I R 2 4 トータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いP C Rを行なった。得られた約6 0 0 b pの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブH、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

（結果および考察）

I R 2 4 ゲノミックライブラリースクリーニングにより1 5 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ（X S H 1 8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、X S H 1 8に対応するI R 2 4 ゲノム塩基配列を決定した。

### 実施例 3 高精度分離分析

（1）P C R マーカー P 4 4 9 7 M b o I の開発

実施例2で明らかにしたI R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号2 8）とを比較した結果、配列番号2 7の1 2 3 9番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号2 8の1 2 6 3 1番目の塩基はGであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

20 P 4 4 9 7 M b o I F :

5' - ccctccaacacataaaatgggttag - 3' （配列番号3 9）

（配列番号2 7の塩基8 5 3 - 8 7 6に相当）

（配列番号2 8の塩基1 2 2 4 7 - 1 2 2 7 0に相当）

および

25 P 4 4 9 7 M b o I R :

5' - ttctctgccaggaaactgttagatg - 3' （配列番号4 0）

（配列番号2 7の塩基1 5 8 3 - 1 5 6 0に相当）

（配列番号2 8の塩基1 2 9 7 5 - 1 2 9 5 2に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約730bpの断片を増幅する。増幅産物をMboI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMboIの認識配列（GATC）をもたず、MboI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はMboIの認識配列をもち、MboI処理により切断されるため、MboI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

## (2) PCRマーカーP9493 BslIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）とを比較した結果、配列番号27の6227番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の17627番目の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

15 P9493 BslI F：

5' -gcgatcttatacgcatactatgcg-3' （配列番号41）

（配列番号27の塩基6129-6152に相当）

（配列番号28の塩基17529-17552に相当）

および

20 P9493 BslI R：

5' -aaagtctttgttccttcaccaagg-3' （配列番号42）

（配列番号27の塩基6254-6231に相当）

（配列番号28の塩基17654-17631に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い126bpの断片を増幅する。増幅産物をBslI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBslIの認識配列（CCNNNNNNNGG）をもたず、BslI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はBslIの認識配列をもち、BslI処

理により切断されるため、B s l I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

5      なお、本マーカの開発には、d C A P S 法 (M i c h a e l s   a n d   A  
m a s i n o   1 9 9 8,   N e f f   e t   a l   1 9 9 8) を適用した。具  
体的には、前記 P 9 4 9 3   B s l I   R プライマーの使用により、配列番号 2  
7 の 6 2 3 6 および配列番号 2 8 の 1 7 6 3 6 の a が g に置換される。これによ  
り、あそみのり DNA 由来の断片は、配列番号 2 8 の 1 7 6 2 6 - 1 7 6 3 6 の  
部分の配列が C C t t t c c t t G G となり、B s l I 処理により切断される。

(3) P C R マーカ P 2 3 9 4 5   M b o I の開発

10      実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列  
番号 2 7) とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 2 8)  
とを比較した結果、配列番号 2 7 の 2 0 6 8 0 番目の塩基が G であるのに対し、  
当該位置に対応する配列番号 2 8 の 3 2 0 7 9 番目の塩基は A であることを見出  
した。

15      この差異の検出には、先ず次のプライマー対 :

P 2 3 9 4 5   M b o I   F :

5' - g a g g a t t t a t c a a a a c a g g a t g g a c g - 3'      (配列番号 4 3)

(配列番号 2 7 の塩基 2 0 5 1 9 - 2 0 5 4 4 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 3 1 9 1 8 - 3 1 9 4 3 に相当)

20      および

P 2 3 9 4 5   M b o I   R :

5' - t g g g c g g c a g c a g t g g a g g a t a g a - 3'      (配列番号 4 4)

(配列番号 2 7 の塩基 2 0 7 7 8 - 2 0 7 5 5 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 3 2 1 7 7 - 3 2 1 5 4 に相当)

25      を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い 2 6 0 b p の断片を増幅する。増幅産  
物を M b o I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化するこ  
とができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は M b o I の認識配列  
(G A T C) をもち、M b o I 処理により切断されるのに対し、あそみのり DN  
A からの増幅産物は M b o I の認識配列をもたず、M b o I 処理により切断され

ないため、M b o I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(4) P C R マーカー P 4 1 0 3 0 T a q I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 5 4 6 1 番目の塩基が A であるのに対し、当該位置に対応する配列番号 2 8 の 4 9 1 6 4 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

10 P 4 1 0 3 0 T a q I F :

5' - aagaaggagggttatagaatctg - 3' (配列番号 4 5)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 3 6 9 - 4 5 3 9 2 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 0 7 2 - 4 9 0 9 5 に相当)

および

15 P 4 1 0 3 0 T a q I R :

5' - atatcaggactaacaccactgctc - 3' (配列番号 4 6)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 6 4 8 - 4 5 6 2 5 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 3 5 1 - 4 9 3 2 8 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い 2 8 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を T a q I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は T a q I の認識配列 (T C G A) をもたず、T a q I 処理により切断されないのに対し、あそみのり DNA からの増幅産物は T a q I の認識配列をもち、T a q I 処理により切断されるため、T a q I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(5) P C R マーカー P 4 5 1 7 7 B s t U I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 9 6 0 9 番目の塩基が A であるのに対し、

当該位置に対応する配列番号 28 の 53311 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

P 4 5 1 7 7 B s t U I F :

- 5 5' - acgagtagtagcgatcttccagcg - 3' (配列番号 47)  
 (配列番号 27 の塩基 49355 - 49378 に相当)  
 (配列番号 28 の塩基 53057 - 53080 に相当)

および

P 4 5 1 7 7 B s t U I R :

- 10 5' - cagcgtgaaactaaaaacggaggc - 3' (配列番号 48)  
 (配列番号 27 の塩基 50166 - 50143 に相当)  
 (配列番号 28 の塩基 53868 - 53845 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い 812 bp の断片を増幅する。増幅産物を B s t U I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 24 DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列 (C G C G) を 2 個所もち、B s t U I 処理により 3 個の断片に切断されるの  
 15 に対し、あそみのり DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列を 3 個所もち、B s t U I 処理により 4 個の断片に切断されるため、B s t U I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができ  
 20 る。

(6) PCR マーカー B 6 0 3 0 4 M s p I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 24 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 27) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 27 の 56368 番目の塩基が T であるの  
 25 に対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B 6 0 3 0 4 M s p I F :

- 5' - atcccacatcatcataatccgacc - 3' (配列番号 49)



(配列番号 27 の塩基 5 6 1 4 9 - 5 6 1 7 2 に相当)

および

B 6 0 3 0 4 M s p I R :

5' - agcttctcccttggatacgggtggcg - 3' (配列番号 50)

5 (配列番号 27 の塩基 5 6 4 7 9 - 5 6 4 5 5 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 3 3 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を M s p I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は M s p I の認識配列 (C C G G) をもたず、M s p I 処理により切断されないのに対し、日本晴 D N A からの増幅産物は M s p I の認識配列をもち、M s p I 処理により切断されるため、M s p I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

15 なお、本マーカの開発には、d C A P S 法を適用した。具体的には、B 6 0 3 0 4 M s p I R プライマーの使用により、配列番号 27 の 5 6 4 6 3 の g が t に置換される。これにより、配列番号 27 の 5 6 4 6 0 - 5 6 4 6 3 の M s p I の認識配列 C C G G が c c g t となり、M s p I によって切断されなくなる。よって、I R 2 4 由来の断片は M s p I の認識配列を一つも有さず、一方、日本晴由来の DNA は、配列番号 27 の 5 6 3 6 7 - 5 6 3 7 0 に対応する領域に 1 箇所 M s p I の認識配列を有することとなる。

20 (7) P C R マーカ B 5 9 0 6 6 B s a J I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 27) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 27 の 5 7 6 2 9 番目の塩基が C であるのに対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

B 5 9 0 6 6 B s a J I F :

5' - atttgttggtttagttgcggctgag - 3' (配列番号 51)

(配列番号 27 の塩基 5 7 5 6 3 - 5 7 5 8 6 に相当)

および

B 5 9 0 6 6 B s a J I R :

5' - g c c c a a a c t c a a a a g g a g a g a a c c - 3' (配列番号 5 2)

(配列番号 2 7 の塩基 5 7 9 8 3 - 5 7 9 6 0 に相当)

- 5 を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 4 2 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を B s a J I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 D N A からの増幅産物は B s a J I の認識配列 (C C N N G G) をもたず、B s a J I 処理により切断されないのに対し、日本晴 D N A からの増幅産物は B s a J I の認識配列をもち、B s a J I 処理により切断されるため、B s a J I 処理後の D N A 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(8) P C R マーカー B 5 6 6 9 1 X b a I の開発

- 15 実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 2 7 の 6 6 2 6 7 番目の塩基が G であるのに対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

B 5 6 6 9 1 X b a I F :

- 20 5' - c c t c a a g t c t c c c c t a a a g c c a c t - 3' (配列番号 5 3)

(配列番号 2 7 の塩基 6 6 1 2 9 - 6 6 1 5 2 に相当)

および

B 5 6 6 9 1 X b a I R :

5' - g c t c t a c t g c t g a t a a a c c g t g a g - 3' (配列番号 5 4)

- 25 (配列番号 2 7 の塩基 6 6 7 9 9 - 6 6 7 7 6 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 6 7 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を X b a I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 D N A からの増幅産物は X b a I の認識配列 (T C T A G A) をもたず、X b a I 処理により切断されないのに対し、日本晴

DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列をもち、XbaI処理により切断されるため、XbaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(9) PCRマーカーB53627 BstZ17Iの開発

- 5 実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）と既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の69331番目の塩基がTであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

- 10 この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B53627 BstZ17I F：

5' - tggatggactatgtgggggtcagtc - 3' （配列番号55）

（配列番号27の塩基68965 - 68988に相当）

および

- 15 B53627 BstZ17I R：

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' （配列番号56）

（配列番号27の塩基69582 - 69559に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約620bpの断片を増幅する。

増幅産物をBstZ17I処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、

- 20 可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBstZ17Iの認識配列（GTATAC）をもち、XbaI処理により切断されるのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はBstZ17Iの認識配列をもたず、BstZ17I処理により切断されないため、BstZ17I処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

- 25 (10) PCRマーカーB40936 MseIの開発

以下の(10) - (12)のPCRマーカーの開発はいずれも、配列番号27の3'末端76363よりもさらに下流（3'末端）側に相当する塩基配列についての研究に関する。

既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列に対して、次のプライマー対：

5' - tacgacgccatttcactccattgc - 3' （配列番号57）

および

5 5' - catttctctatgggcgttgcctcg - 3' （配列番号58）

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ（Rf-1座の遺伝子型はRf-1 Rf-1）およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377（ABI社）により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

B40936 MseI F：

5' - acctgtagggtatggcaccttcaacac - 3' （配列番号59）

15 および

B40936 MseI R：

5' - ccaaggaacgaagtccaatgtatgg - 3' （配列番号60）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMseI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）DNAからの増幅産物はMseIの認識配列（TTAA）をもち、MseI処理により切断されるのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMseIの認識配列をもたず、MseI処理により切断されないため、MseI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

25 なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

（11）PCRマーカーB19839 MwoIの開発

既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列に対して、次のプライマー対：

5' - tgatgtgtttgggcatccctttcg - 3' （配列番号61）

および

5' -gagataggggacgacagacacgac-3' (配列番号62)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ (Rf-1 Rf-1) およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377 (ABI社) により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

10 B19839 MwoI F：

5' -tcctatggctgttttagaaactgcaca-3' (配列番号63)

および

B19839 MwoI R：

5' -caagttcaaacataactggcgttg-3' (配列番号64)

15 を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMwoI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ (Rf-1 Rf-1) DNAからの増幅産物はMwoIの認識配列 (GCNNNNNNNGC) をもたず、MwoI処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMwoIの認識配列をもち、MwoI処理により切断されるため、MwoI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

(12) PCRマーカーB2387 BfaI の開発

既述のBACクローン (アクセッション番号AC068923) の塩基配列に

25 対して、次のプライマー対：

5' -cactgtcctgtaagtgtgctgtgc-3' (配列番号65)

および

5' -caagcgtgtgataaaatgtgacgc-3' (配列番号66)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377（ABI社）により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

B2387 BfaI F：

5' - tgcctactgccattactatgtgac - 3' （配列番号67）

10 および

B2387 BfaI R：

5' - acatactaccgtaaattggtctctg - 3' （配列番号68）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をBfaI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）DNAからの増幅産物はBfaIの認識配列（CTAG）をもたず、BfaI処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はBfaIの認識配列をもち、BfaI処理により切断されるため、BfaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

20 （13）分離分析

実施例1で得られた、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体2個体（RS1およびRS2）およびRf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体8個体（RC1からRC8）について、上記

（1）ないし（12）で開発した12個のDNAマーカー座の遺伝子型を調査した。結果を、各個体のS12564 Tsp509I座およびC1361 MwoI座の遺伝子型とともに表4に示した。

表 4 *Rf-1* 座極近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	RS1	RS2	RC1	RC2	RC3	RC4	RC5	RC6	RC7	RC8
S12564 Tsp509I	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P4497 MboI	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P9493 BslI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P23945 MboI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P41030 TaqI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P45177 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B60304 MspI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B59066 BsaJI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B56691 XbaI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B53627 Bst217I	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B40936 MseI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B19839 MwoI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	H
B2387 BfaI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	J
C1361 MwoI	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ  
H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

表 4 は、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の *Rf-1* 染色体領域を有することを示す。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、*Rf-1* 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 6 5 k b）に、*Rf-1* 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

ただし、*Rf-1* 遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、*Rf-1* 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。よって、上記共有インディカ型領域（配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7）が *Rf-1* 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

1) 遺伝子の大きさは通常数 k b であり 1 0 k b を超えることは稀である；

2) 本発明で明らかにした I R 2 4 のゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号 2 7 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から 1 2 3 8 b p 上流に位置し、別の遺伝子 (S 1 2 5 6 4) の一部である；および

5 4) 配列番号 2 7 の 3' 末端は、上記共有インディカ型領域の 3' 末端から 1 0 0 9 6 b p 下流に位置する

により、少なくとも配列番号 2 7 は R f - 1 遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

#### 実施例 4 X S E 1 由来の 9. 7 k b 断片に関する相補性試験

10 (材料および方法)

λファージクローン X S E 1 (図 1 および 5) を N o t I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 9. 7 k b の断片 (配列番号 2 7 の塩基 1 - 9 6 5 7 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

15 一方、p S B 1 1 (K o m a r i ら、上述) を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター p S B 2 0 0 を作成した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (P u b i - u b i I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (T n o s) を接続した。これより得られた P u b i - u b i I - T n o s 接続体の u b i I - T n o s 間に、ハイグロマイシン体制遺伝子 (H Y G (R)) を挿入することにより、P u b i - u b i I - H Y G (R) - T n o s からなる接続体を得た。この接続体を、p S B 1 1 の H i n d I I I / E c o R I 断片に接続することにより、p K Y 2 0 5 を得た。この p K Y 2 0 5 の P u b i 上流に存在する H i n d I I I 部位に N o t I、N s p V、E c o R V、K p n I、S a c I、E c o R I の制限酵素部位を追加するためのリンカー部位を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有する p S B 2 0 0 を得た。

20

25

上記プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動



にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S E 1由来の9.7 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r. 1 (TAKA  
5 RA社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水(M i l l i p o r e社製装置により作成)に溶解後、大腸菌DH5  $\alpha$ と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振盪培養(37°C、1時間)した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温(37°C、  
10 16時間)した。生じたコロニーのなかの24個についてプラスミドを単離した。その制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、組換えプラスミドにより形質転換された所望の大腸菌を選抜した。

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株L B A 4 4 0 4 / p S B 1 (K o m a r i e t a l, 1996) およびヘルパー大腸菌H B 1 0 1 / p R K 2 0 1 3 (D i t t a e t a l, 1980) とともに供試して、D i t t a e t a l (1980) の方法に従い、三菌系交雑(t r i p a r e n t i a l m a t i n g)を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所  
20 望のアグロバクテリウムを選抜した。

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1994) の方法に準拠し、MSコシヒカリ(BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一)の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成し  
25 た。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、48個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し(4個体/ポット)、移植3~4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 48 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 9.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

5 実施例 5 XSE7 由来の 14.7 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

10 λファージクローン XSE7 (図 1 および 5) を EcoRI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された 14.7 kb の断片 (配列番号 27 の塩基 2618-17261 を含む) を、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いて精製した。

15 一方、プラスミドベクター pSB200 を SacI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化し、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

20 上記により準備した、XSE7 由来の 14.7 kb 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

25 形質転換植物 48 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 14.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 6 XSF4 由来の 21.3 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF4（図1および5）をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された21.3kbの断片（配列番号27の塩基12478-33750を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

- 5 一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。
- 10 上記により準備した、XSF4由来の21.3kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

（結果および考察）

- 15 形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した21.3kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例7 XSF20由来の13.2kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

- 20 λファージクローンXSF20（図1及び5）をSalIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された13.2kbの断片（配列番号2の塩基26809-40055を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。
- 25

一方、プラスミドベクターpSB200をEcoRVで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気

泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S F 2 0 由来の 1 3 . 2 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (T  
5 A K A R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 4 4 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 1  
3 . 2 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考え  
10 られた。

#### 実施例 8 X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローン X S F 1 8 は X S F 2 0 と 5 ' 末端及び 3 ' 末端 (各々、  
配列番号 2 7 の塩基 2 0 3 2 8 及び 4 1 9 2 1) と同一だが、途中の塩基 3 3 9  
15 4 7 - 3 8 5 9 1 を欠いている。よって、配列番号 2 7 の塩基 2 0 3 2 8 - 3 3  
9 4 6 及び 3 8 5 9 2 - 4 1 9 2 1 を含む。これは、最初にクローン X S F 1 8  
が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、  
再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、X S F 2 0 と命名  
したことに因る。

20 λファージクローン X S F 1 8 (図 5) を N o t I で完全消化し、アガロース  
ゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 6 . 2 k b の断片 (配列番号 2 7 の  
塩基 2 1 0 6 5 - 3 3 9 4 6 及び 3 8 5 9 2 - 4 1 9 2 1 を含む) を、Q I A E  
X I I (Q I A G E N社) を用いて精製した。

一方、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール  
25 沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P  
(T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気  
泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター  
断片を精製した。

上記により準備した、X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

5 (結果および考察)

形質転換植物 4 8 個体は、いずれも不稔であった(図 6)。このことから、導入した 1 6 . 2 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 9 X S G 2 2 由来の 1 2 . 6 k b 断片に関する相補性試験

10 (材料および方法)

λファージクローン X S G 2 2 (図 1 および 5) を N o t I で部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 2 . 6 k b の断片(配列番号 2 7 の塩基 3 1 6 8 4 - 4 4 1 0 9 を含む)を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

15 一方、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

20 上記により準備した、X S G 2 2 由来の 1 2 . 6 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

25 形質転換植物 4 8 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 1 2 . 6 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 1 0 X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b 断片に関する相補性試験

(1)

## (材料および方法)

λファージクローンXSG16 (図1および5) をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された15.7 kbの断片 (配列番号27の塩基38538-54123を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSG16由来の15.7 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

## (結果および考察)

形質転換植物47個体のうち、少なくとも37個体は、明らかに稔性を回復していた (図6)。このことから、導入した15.7 kb断片のなかのイネ (IR24) に由来する部分である15586塩基 (配列番号27の塩基38538-54123) が、完全長のRf-1遺伝子を包含していると考えられた。

## (2) XSG16内部の11.4 kb断片に関する相補性試験

## (材料および方法)

λファージクローンXSG16をAlwNIおよびBsiWIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された11.4 kbの断片を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

プラスミドベクターpSB11 (Komari et al. Plant Journal, 1996) をSmaIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA

社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備したふたつの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K  
 5 i t V e r . 1 (T A K A R A社)を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (M i l l i p o r e社製装置により作成)に溶解後、大腸菌D H 5  $\alpha$ と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、L B培地で振とう培養 (3 7 °C、1 時間) した後、スペクチノマイシンを含むL Bプレートに広げ、加温 (3 7 °C、1 6 時間) した。生じたコロニーのなかの1 4 個  
 10 について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株L B A 4 4 0 4 / p S B 4 U (高倉ら、特願2 0 0 1 - 2 6 9 9 8  
 15 2 (W O 0 2 / 0 1 9 8 0 3 A 1)) およびヘルパー大腸菌H B 1 0 1 / p R K 2 0 1 3 (D i t t a e t a l , 1 9 8 0) とともに供試して、D i t t a e t a l (1 9 8 0) の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n t i a l m a t i n g) を行った。スペクチノマイシンを含むA Bプレートに生じたコロニーのなかの1 2 個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長  
 20 パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1 9 9 4) の方法に準拠し、M S コシヒカリ (B T細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要なM S コシヒカリの未熟種子は、M S コシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成し  
 25 た。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、1 2 0 個体の植物を、1 / 5 0 0 0 アールのワグネルポットに移植し (4 個体 / ポット)、移植約1 か月後に短日条件の温室に移した。出穂約1 か月後に、

各個体から標準的な穂を1穂サンプリングし、種子稔性（総もみ数に対する稔実もみの割合）を調査した。

（結果および考察）

5 形質転換植物120個体のうち、59個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち19個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した11.4 kb断片（配列番号27の42357番目の塩基から53743番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

（3） XSG16内部の6.8 kb断片に関する相補性試験

10 （材料および方法）

λファージクローンXSG16をHpaIおよびAlwNIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.8 kbの断片を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

15 プラスミドベクターpSB11の調整を含め、以後の過程は上記（2）に記載の方法に準拠した。

（結果および考察）

20 形質転換植物120個体のうち、67個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち26個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した6.8 kb断片（配列番号27の42132番目の塩基から48883番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

実施例11 XSG8由来の16.9 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

25 λファージクローンXSG8（図1および5）をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.9 kbの断片（配列番号27の塩基46558-63364を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP



(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSG8由来の16.9 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した16.9 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例12 XSH18由来の20.0 kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSH18 (図1および5)をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された20.0 kbの断片(配列番号27の塩基56409-76363を含む)を、QIAEXII (QIAGEN社)を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSH18由来の20.0 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 4 4 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 20.0 kb 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 1 3 X S G 8 および X S H 1 8 の重複部由来の 1 9 . 7 k b 断片に関

5 する相補性試験

(材料および方法)

実施例 1 1 におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド (X S G 8 S B 2 0 0 . F) を、S a l I および S t u I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 2 . 8 k b の断片

10 (配列番号 2 7 の塩基 5 0 4 3 0 - 6 3 1 9 7 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

一方、実施例 1 2 におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド (X S H 1 8 S B 2 0 0 R) を、S a l I、S t u I および X h o I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された

15 6 . 9 k b 断片 (配列番号 2 7 の塩基 6 3 1 9 4 - 7 0 1 1 6 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

さらに、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を E c o R V で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S G 8 由来の 1 2 . 8 k b の断片、X S H 1 8 由来の 6 . 9 k b の断片、及びベクター断片の三個の断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (T A K A R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。ライゲーション産物は、X S G 8 および X S H 1 8 の重複部由来の 1 9 . 7 k b 断片 (配列番号 2 7 の 5 0 4 3 0 - 7 0 1 1 6 を含む) (図 5 の X S X 1) を含む。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 40 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 19.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例 14 cDNAライブラリーの作成

5 5 先ず、戻し交雑によりコシヒカリに Rf-1 を導入した系統 IL216 (遺伝子型は Rf-1/Rf-1) を作成した。前記 IL216 を慣行法で温室栽培し、葉耳間長が -5 ~ 5 cm の生育段階で幼穂をサンプリングした。SDS-フェノール法 (Watanabe, A. and Price, C. A. (1982) Translation of mRNAs for subunits of chloroplast coupling factor 1 in spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A., 79, 6304-6308) でトータル RNA を抽出した後、QuickPrep mRNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech) により poly(A)<sup>+</sup> RNA を精製した。

次いで、精製した poly(A)<sup>+</sup> RNA を供試して、ZAP-cDNA Synthesis Kit (Stratagene) により cDNA ライブラリーを作成した。作成したライブラリー (1 ml) のタイターは 16000000 pfu/ml と算出され、十分な大きさであると判断された。

#### 実施例 15 cDNAライブラリーのスクリーニング

##### (1) スクリーニング用プライマーの作成

以下の 2 種類のプライマー、  
センスプライマー

25 5' - tctcattctctccacgccctgctc - 3' (配列番号 76)

アンチセンスプライマー

5' - acggcggagcaattcgctgaacac - 3' (配列番号 77)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号76及び77は各々、配列番号27の塩基43733-43756及び44038-44015に相当する。

電気泳動後、約300bpの増幅産物をQIAEX II Gel Extraction Kit (QIAGEN) によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて<sup>32</sup>P-ラベルした（以下、「プローブP」と呼称する）。

また、以下の2種類のプライマー、

#### 10 センスプライマー

5' - agtgtgtggcatggtgcatttccg - 3' (配列番号78)

アンチセンスプライマー

5' - ctctacaggatacacggtgtaagg - 3' (配列番号79)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号78及び79は各々、配列番号27の塩基48306-48329及び50226-50203に相当する。電気泳動後、約1900bpの増幅産物を上述の方法によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、上述の方法で<sup>32</sup>P-ラベルした（以下、「プローブQ」と呼称する）。

#### (2) cDNAライブラリーのスクリーニング

20 実施例14で作成したcDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を70枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia Biotech) に転写した。一方のメンブレンをプローブPとのハイブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブQとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。

25 ハイブリダイゼーションは、250mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1mM EDTA および7% SDSを含むハイブリダイゼーション溶液にプローブを添加し、65℃で16時間行った。洗浄は、1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った後、0.1×SSCおよび0.1% SDS

を含む溶液により65℃、15分で2回行った。洗浄後のメンブレンをF U J I X B A S 1 0 0 0 (F u j i P h o t o F i l m s) で解析した。

その結果、プローブPおよびプローブQのどちらでも陽性を示すプラークが8個見出された。そこで、それらプラークを単離し、製造者 (S t r a t a g e n e) の手引書に従い p B l u e s c r i p t にサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。8個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致した。それら6クローンの全塩基配列を決定し、結果を、配列表の配列番号69-74に示した。

配列番号69-74のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号69の塩基215-2587、配列番号70の塩基213-2585、配列番号71の塩基218-2590、配列番号72の塩基208-2580、配列番号73の塩基149-2521及び配列番号74の塩基225-2597が、いずれも配列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

配列番号75のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子 (R f 2) の推定アミノ酸配列 (C u i e t a l. , 1996) と比較したところ、N末端の7アミノ酸残基 (M e t - A l a - A r g - A r g - A l a - A l a - S e r) が一致した。これら7アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている (L i u e t a l. , 2001)。これらのことから、今回単離したcDNAはRf-1遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネRf-1とトウモロコシRf2とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。遺伝子産物がミトコンドリアに移行してからの稔性回復機構は、両者で異なるものと推測される。

また、今回単離したcDNAの配列をIR24のゲノム配列 (配列番号27) と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった (図7)。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリA付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。

#### 実施例16 相補性試験

実施例 10 (3) において、稔性回復能を持つことが証明された I R 2 4 由来の 6. 8 k b ゲノム断片を含むプラスミド中の、R f - 1 遺伝子のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片を用いて、相補性実験を行った。

5      先ず、上記実施例 10 (3) のプラスミドを E c o R I で処理し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片（配列番号 27 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 に相当する）を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。この 4. 2 k b 断片を、E c o R I 処理後 C I A P (T A K A R A) 処理した p B  
10    l u e s c r i p t I I   S K ( - ) とともに供試して、DNA   L i g a t i o n   K i t   V e r .   1 (T A K A R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿により DNA を回収した。

回収した DNA を純水 (M i l l i p o r e 社製装置により作成) に溶解後、大腸菌 D H 5  $\alpha$  と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポ  
15    レーション後の溶液を、L B 培地で振とう培養 (37°C、1 時間) した後、アンピシリンを含む L B プレートに広げ、加温 (37°C、16 時間) した。生じたコロニーのなかの 12 個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。つぎに、選抜した大腸菌から単離したプラスミドを、B a m H I および S a l I で処  
20    理後、アガロースゲルによる電気泳動を行い、R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。

一方、T n o s J H 0 0 7 2 (n o s ターミネーターおよびアンピシリン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター) を B a m H I および S a l I で処理後、ア  
25    ガロースゲルによる電気泳動を行った。n o s ターミネーターおよびアンピシリン耐性遺伝子カセットとを包含する 3. 0 k b 断片を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。

R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片及び T n o s J H 0 0 7 2 由来の断片を、前述の方法でライゲーション反応およびポ

レーションを行った。アンピシリンを含むLBプレートに広げ、加温（37°C、16時間）後、生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

5 さらに、上述のとおり選抜した大腸菌から単離したプラスミドを、SgfIで処理後、アガロースゲルによる電気泳動を行い、Rf-1のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する4.2kb断片を分離し、QIAEXII（QIAGEN）を用いてゲルから回収した。この4.2kb断片を、PacI処理後CIAP（TAKARA）処理したpSB200Pac（ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター）とともに供試して、前述の方法でライゲーション反応およびポレーションを行った。スペクチノマイシンを含むLBプレートに  
10 広げ、加温（37°C、16時間）後、生じたコロニーのなかの16個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

15 以上の工程により、Rf-1のプロモーター領域とRf-1の予想翻訳領域を含む断片にnosターミネーターが接続されたキメラ遺伝子が、中間ベクター内に挿入された大腸菌が得られた。この大腸菌を、Agrobacterium tumefaciens 菌株LB4404/pSB1（Komari et al, 1996）およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013（Ditta et al, 1980）とともに供試して、Ditta et al  
20 （1980）の方法に従いtriparential matingを行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

25 上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、Hiei et al（1994）の方法に準拠し、MSコシヒカリ（BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一）の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、32個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体？ポット）、移植3～4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。その結果、32個体のうち28個体は、稔性を回復していることがわかった。

以上の結果から、予想翻訳領域を発現させることによりRf-1遺伝子の機能を付与できることが、実験的に証明された。

#### 実施例17 cDNA単離

実施例15は、プローブPおよびプローブQによりIR24幼穂由来cDNAライブラリーをスクリーニングし、どちらのプローブでも陽性を示すプラークを単離・解析することにより、6個のcDNAを単離した。本実施例では、プローブPおよび下記のプローブRにより同様のスクリーニングを行うことにより、さらに6個のcDNAを単離した。詳細は、以下のとおりである。

まず、2種類のプライマー、

15 センスプライマー

5' - cagttgggttgaaacctaatactg - 3' (配列番号86)

アンチセンスプライマー

5' - cactaaaccgtagacgagaaagc - 3' (配列番号87)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号86および87は各々、配列番号27の塩基45522-45545及び45955-45932に相当する。

電気泳動後、約430bpの増幅産物をQIAEX II (QIAGEN)によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて<sup>32</sup>P-ラベルした（プローブR、図8）。

IR24幼穂由来cDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を20枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia Biotech)に転写した。一方のメンブレンを実施例15のプローブPとのハイ



ブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブRとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。その結果、プローブPおよびプローブRのどちらでも陽性を示すプラークが12個見出された。

5       そこで、それらプラークを単離し、製造者（Stratagene）の手引書に従いpBluescriptにサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。12個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列がXSG16の配列と一致したため、それら6クローンの全塩基配列を決定した（#7-#12）。その結果を配列番号80-85に示す。

10       配列番号80-85のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号80の塩基229-2601、配列番号81の塩基175-2547、配列番号82の塩基227-2599、配列番号83の塩基220-2592、配列番号84の塩基174-2546及び配列番号85の塩基90-2462が、いずれも配  
15       列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

今回単離したcDNAの配列をIR24のゲノム配列（配列番号27）と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった（図8）。今回単離したcDNAのなかには、予想翻訳領域とは関係のないエキソンを含まず、  
20       単一エキソンからなるものも3個存在した（#10-#12、配列番号83-85）。

## 請求の範囲

1. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法。
2. 配列番号 75 のアミノ酸配列をコードする核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する、請求項 1 に記載の方法。
3. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 1 又は 2 に記載の方法：
- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
  - b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；
  - c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
  - d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
  - e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
  - f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；
  - g) 配列番号 27 の塩基 43907 - 46279 を含む核酸；
  - h) 配列番号 80 の塩基 229 - 2601 を含む核酸；
  - i) 配列番号 81 の塩基 175 - 2547 を含む核酸；
  - j) 配列番号 82 の塩基 227 - 2599 を含む核酸；
  - k) 配列番号 83 の塩基 220 - 2592 を含む核酸；
  - l) 配列番号 84 の塩基 174 - 2546 を含む核酸；
  - m) 配列番号 85 の塩基 90 - 2462 を含む核酸；
  - n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
  - o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

4. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす、請求項 3 に記載の方法：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 10 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である；
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である；
- 15 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である；
- 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である；又は
- 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

5. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して被検定イネ個体又は種子が稔性回復遺伝子 (Rf-1 遺伝子) を有するか否かを識別する方法。

6. 以下の a) - p) の核酸：

- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
- 25 b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；
- c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；

- g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 80 の塩基 229-2601 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 81 の塩基 175-2547 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 82 の塩基 227-2599 を含む核酸 ;
- 5 k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 10 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハイ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- 15 のいずれかを利用する、請求項 5 に記載の方法。
7. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、請求項 5 又は 6 に記載の方法 :
- 20 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である ;
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である ;
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である ;
- 25 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である ; は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である ;
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である ;
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である ;
- 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である ;

- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である ;
- 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である ; 又は
- 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

8. i) 以下のいずれかの塩基、

- 5      1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基 ;
- 2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基 ;
- 3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基 ;
- 4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基 ;
- 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基 ;
- 10     6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基 ;
- 7) 配列番号 8 0 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基 ;
- 8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基 ;
- 9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基 ;
- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基 ;
- 15     1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基 ; 及び
- 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し ;

- 20     i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い ; そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

- 9.      工程 i i i) が、以下の条件 1) - 1 2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、請求項 8 に記載の方法 :
- 25

1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない ;

2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない ;

3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

5 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

10 7) 配列番号 8 0 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

15 10) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

11) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；又は

20 12) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない。

10. 配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 1 0 0 塩基の長さのアンチセンスを導入することにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法。

11. 配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 10 に記載の方法：

a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；

- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸 ;
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸 ;
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸 ;
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸 ;
- 5 f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸 ;
- g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- 10 k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 7 0 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 15 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。
- 1 2. 配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸。
- 20 1 3. 以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 1 1 に記載の核酸 :
- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸 ;
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸 ;
- 25 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸 ;
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸 ;
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸 ;
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸 ;
- g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;

- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- 5    l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 7 0 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン
- 10   ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。



1

RFLP Probe (S12564)



Probe A ■ Probe E ■ Probe F ■ Probe G ■ Probe H ■

WSA 1

WSA 3

WSE 8

WSF 5

WSF 7

WSG 6

WSG 2

(1) あそみのり

XSE 1

12481

XSE 7

2618

17261

XSF 4

12478

33750

XSF 20

20328

41921

XSG 22

31684

48847

XSG 16

38538

54123

XSG 8

46538

63364

XSH 18

56409

76363

(2) IR24

図 2

あそみのリコンティグ



IR24コンティグ



AC068923

---

3

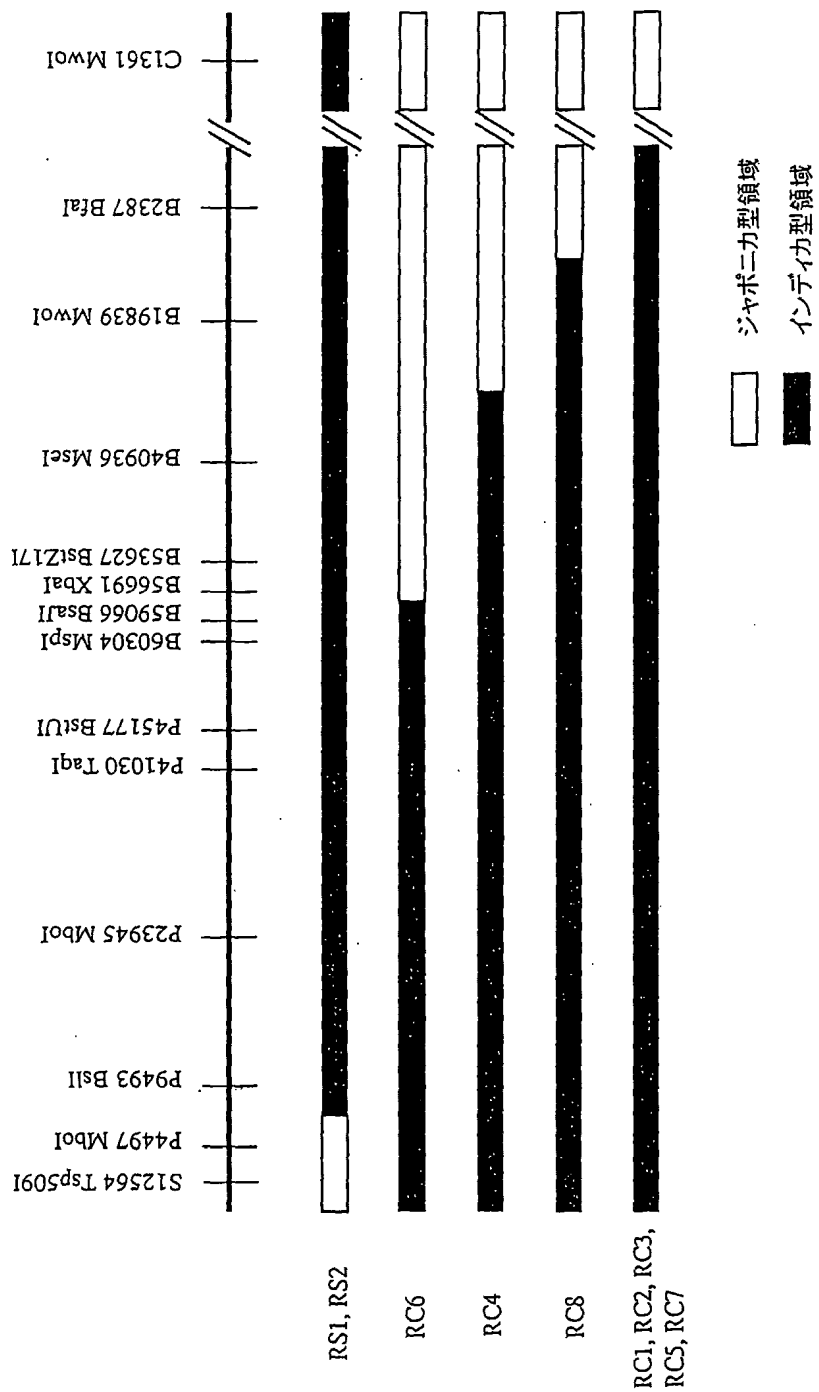
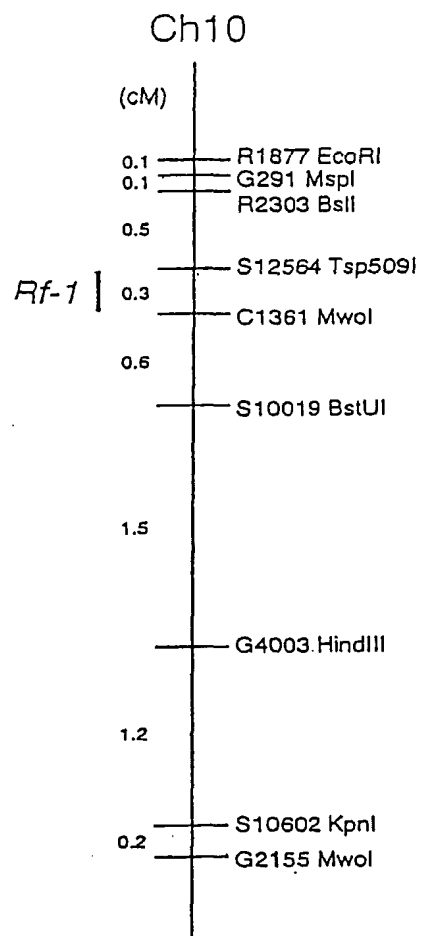


図4



5

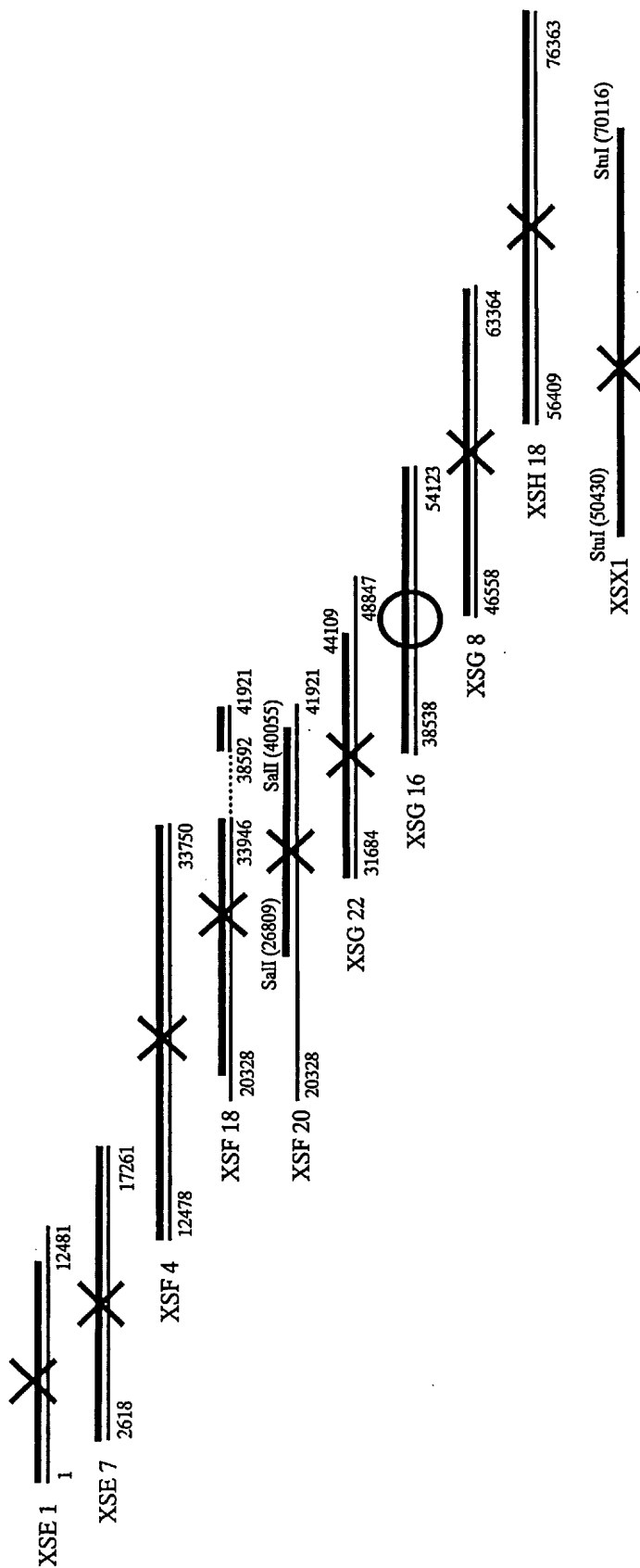


図 6

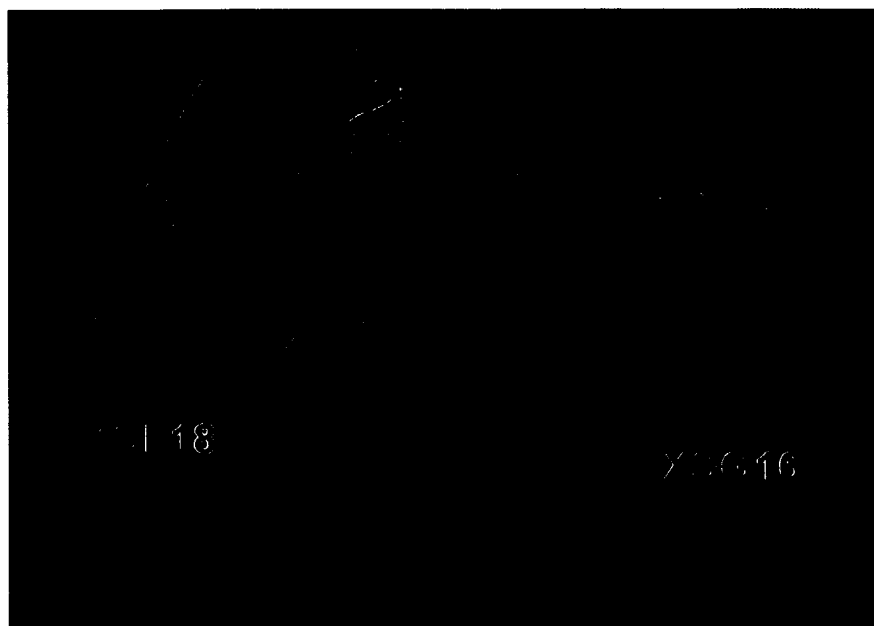
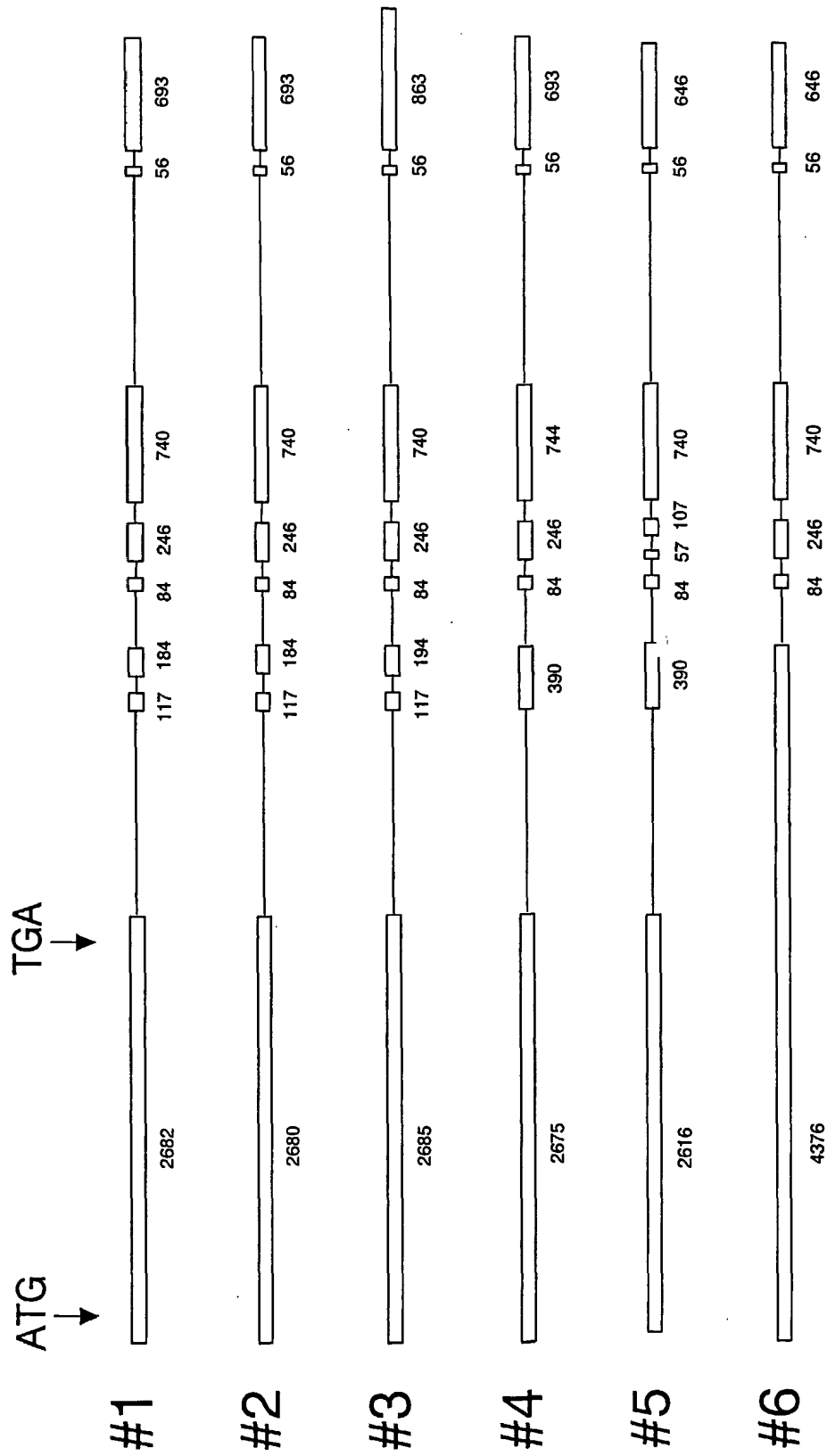
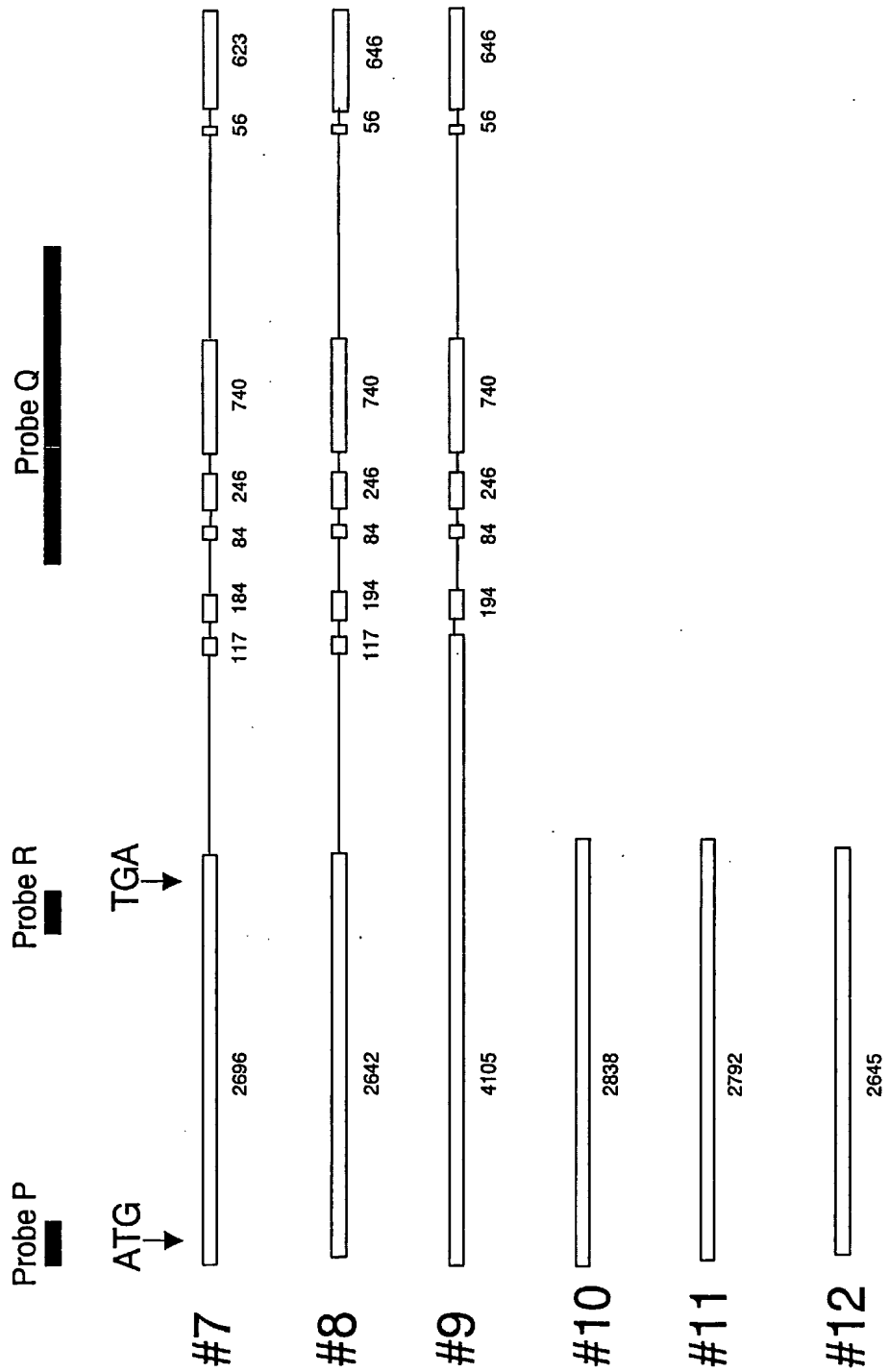


図 7



8

4.2kb genomic fragment of IR24





## SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN TOBACCO INC.

Syngenta Limited

<120> The rice restorer gene to the rice BT type cytoplasmic male sterility.

<130> YCT811

<150> JP 2002-197560

<151> 2002-07-05

<160> 87

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 1

cattcctgct tccatggaaa cgtc 24

<210> 2

<211> 33

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker

sequence.

<400> 2

ctctttctgt atacttgagc ttgacatct gac 33

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 3

gatcgacgag tacctgaacg 20

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 4

aatagttgga ttgtcctcaa aggg 24

<210> 5

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 5

aaagcaaccg acttcagtgg catcacc 27

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> · Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 6

ctggacttca tticcctgca gagc 24

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 7

gaccaccaat taactgatta agctggc 27

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 8

tttctggctc caataatcag ctgtagc 27

<210> 9`

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.

<400> 9

ctgctgcagc aagctgcacc gaaccgg 27

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.

<400> 10

acattttttc ttccgaaact tccg 24

<210> 11

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 11

atggaaagat acactagaat gagc 24

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 12

atcittatata gtggcaggaa agcc 24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 13

aacaatctta tcctgcacag actg 24

<210> 14

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 14

gtcacataga agcagatggg ttcc 24

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 15

agctgttgag agttctatgc cacc 24

<210> 16

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 16

tagccatgca acaagatgtc atac 24

<210> 17

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 17

ctagttagac cgaataactg aggttc 26

<210> 18

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 18

tttgtgggtt tgtggcattg agaaaat 27

<210> 19

<211> 2240

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker G4003 HindIII

<400> 19

gcggccgctc cgggaagtcg agcgagtaga cgccccctgac gccgtacgcg tcggcgagcc 60  
gcagcggcgt ctctggcggg gtgaaggaca gcccgcttcag cgtcgcgcgg cgccgcccgt 120  
tgatcgtcac cggcgccgtg ctccgcagca ggtacgcctg cgtcacgttg atcgacgagt 180  
acctgaacga tccctgtggg ttcggcctcg ccgctccggc actcaggttc cacctgcccc 240

atgcaaaaaa ccaaaaccca aaagcttaat gcgaataata catcattcca cgtattttaa 300  
 aaaataatit ataggtaaaa tttttataat gtatttttagc gacgtaaaatg tcaatgctga 360  
 gaaataaacg ataatacttt aaatgaagtt ctaaaaattta aattttggca tcggttgatg 420  
 ttggataaag aaaacgatgg aggctagtaa tttttcttct tttttaagta tctagattgt 480  
 catatatiga atttttcagt ttttcatccc tttagaggaca atccaactat tattttcctt 540  
 ttcttaigta aaagggtgaa caacataatc aaacataaaa aaataaaaatt aaatgaaata 600  
 aattttacaat tcataaaaatt tacagaatit atgttaagaa aatattcaaa cttagataat 660  
 aataaagcaa caaaatcgta ctaaaaagaa gtataattgt acattgtata ctactactcc 720  
 tacaatttta gacttagaat ttttaatttc ctgaaatcta gtaatgccat tttttctttt 780  
 ctagttgaac cagacagtaa gtttaactcg aaacttataa gctaattgagc gaagtcgggc 840  
 aattcactcg tacctgacgg agcgagcttg gticattggag aaggacttgt cgaactggtc 900  
 ctggggaggg tcggggagcg ggccggaggc ccgccccggg gagtggaggt agcggaggac 960  
 ggcgacgccg gcgacgcggc gccacacggt gtcgttcacc atgcgcgcgc tggcgacgac 1020  
 gtagtagtcg gagctcgcgt tctggtcggt ggtgacgagg aaggagtagg actggccgac 1080  
 gtggacgtcc aggttgggtgt agttctgttg cgtcgtgtag gagccctccg tctccaccag 1140  
 caccatgttg tgcccctgga tccigaagtt gaggcctgct gacgtcccca cgttgtgcac 1200  
 tcggatcctg tacgtcttgc ctgtgtcccc acaccgacgt cgccgacaca cgcgcaaaag 1260  
 ataatagact cattgtaagt aggtagtaac cttctccgtt tcatattata aatcgtttga 1320  
 ttatatTTTT gttagttaaa cttctttaag ttttttttct ataaacttaa ttaaacttaa 1380  
 agaattttta taaaaaaaaa caaacgactt ataataataa atggatggag tagttgcac 1440  
 aatttgtgga tgaagcaaac aagattatat cttttcatg agggtgaaag tattcagtga 1500  
 acaattcgtc agtttcaagt ttcattgaaat cggacagggt ctctgaaagt ctgtattttt 1560  
 ggtactgttg gattgactac tctggcttct gttgtcacat cttttgtatc ctagtttcgg 1620  
 taaaaaaaaa tttggcattt ttactcctat cgttgatctg ttttaactgaa accattgcat 1680  
 gatatactac tagcagacaa aactggtgaa aattcacgag aatgaacttt ttgtcagtta 1740  
 agcattagcg gacagcttca gtaagcagag caggctgcct taaggcttaa agcactatct 1800  
 tccacaacac ttgttcctac aatcaaattc caaatttact atcacaaaaa gcgaaggaac 1860  
 taactaaacc ttactcctac tagtactact gctatgacta tgaacaaga ttccaatcca 1920  
 aagaaaacac agtgctcgat cagcatgata aaagcaacga aacctgctca tccagctgcc 1980



```

aaaatgccac cccactgact ctacgtacgt actacgtatt gacgctgtaa aaaactagcc 2040
gtagtacaga gaagaggacc caaagtttcg tcaaaaattt tattttaccc ggatccacat 2100
tgatggcttc gtactcgatg ccggccggga caaggctgtc gttgtacctg tacgggccct 2160
tgccgttaat cagcacgccg tccggcatcc cgaggctcct gccactgtcc agcatcttcc 2220
tcagatcctg caacgaattc                                     2240

```

<210> 20

<211> 2601

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker C1361 MwoI

<400> 20

```

tcttgctgag atccaagttg cggtaacttt gcccttttct tttttcttc tcttctgaat 60
tttttcatgg tttttgggag agattttcgt aacttgatta cagtcttagg aaaaggccac 120
cttgttcaaa cagggctttc ttgaaaggga tcaatttgct aggagtacat gattctaaaa 180
gcgatttcga aataaaacac agttctcgat ctcatacctg aaaacaaaag gcccatactg 240
tgtaaactgt gattatgctt ctgttaaatg ggatatttgt acaaaattga cgccaaccac 300
ctataaacag attgtgagct tttatcttag taaaataaaa tgtgacattc tactcagtgt 360
tcagtgatcc gatgtcgtct cttctgcgta caacttctaa cagccgtttt cggtagtaca 420
aactagcgaa acaccaaaaa cgcagcattt gagttctgga atacgctgaa attgttagaa 480
tcaaccacga aaccaaaatc attgttcaga aacgttgcaa cgagataaaa cacaagaact 540
tgttttaaca aagcatacgg acagtacata tacggttaca acaccagtc tttatacagt 600
tctgctggag ttccatctac tggctgtcat tgtatctcag gacagacagg ttaacatagg 660
tacaacacaa ttacaggcta aaccgaagcg aactacactg tcagcatctc taacagtatc 720
gtcaagcaag cttatttaca gctgctctag taaatttaca acgtccctgg cagaatccct 780
ctcgittctg gcagcgacga ggcacgggcc atggcccttag caggacatct caccgcctag 840
ctgcatagaa agcaaccgac ttcagtgga tccactcctg ctccctgcaa aaagttgggt 900
cgatcaatca cgcgtttaat ccaaaacaaa atgggtattt attatgctag cctatgaagc 960
tacctcagag ttctctatit gctctgcagg gaaatgaagt ccagtggaac agttctcaag 1020

```

cacctcaggg ctcttcatcc atgctttgtg tgcttcaatg gctttcagct tatagcgaaa 1080  
catctgcgat acggatctaa aattaaggat gtcgacaatt acttaacaca acaataaatt 1140  
gaagcaggtc cagttaaaga aaagtagcag cgaagaatag cactctgaag tctgaacctc 1200  
agataaagaa atggttgggt tttccagttc atctccctca acatggattc cagtaccttg 1260  
gcattctggg caaaggatgg atgttatitt cttagggtgca ttttttgcct ttcttctctg 1320  
attgcitttt cccttgcttg caattttgtc tgctagcatc tcataatggc ataaaatagt 1380  
ccagtgcaca aggcaagaag tgtgaaacaa atgaaatgcc tgcaaaatta gccgtacaaa 1440  
gtcattggag gttgcagcag aatactacaa atttttaaag aagaaactat acactgtcta 1500  
tgttttgctt gaaatgaatt caaccacttt gcattatacg gtttggaatc cctggtttgt 1560  
gagaactgta attccattac aacagtgaag aagttaccat aactaatgaa tggaaattag 1620  
tcaaatgcct aatttttttag gtttgcttta atttatttat ctgtgagaaa tgctaagcat 1680  
gtcatgcgtt gctatcttca agaaatacta agaaactgca aaggcaaaga atgtttgaaa 1740  
taacttacct cgcttgagtt tctactgctg caggctagat ttctgtctt gcagttgagc 1800  
aaggtagcta catccttttc aagaagcatt ggtcgcccac aaataatcaca agctttctca 1860  
gcagcaaggc gcttctgctt acgcaactcc ctctcatag atttggtgga taagaggcca 1920  
acttgaagat tgtgtgaagt acctgtcggg gaacctgtta tgatagcttg gctattgtca 1980  
tgggcggagc tgctttgctc attcgactcc tctgaagatg ctctttgatc tgaaaatgac 2040  
ttctttcttc tctttccacg gigtccagca tcatcaatca cgaagaaaga tccagcagag 2100  
ataggaaggt cctgatcatc agaagaccac ttcttgccca actcaattgt ataagagaag 2160  
ttgacaatgg caaagtcaga ttgctcatag ggtcacact catccaagcc atgggagcca 2220  
tctgttcta cccaagcaca ccagatcttg ctaatctttt tacttcttt gctagcttcc 2280  
cataacctgt atgcaatatt tccatatccc aaaagatgca caggcaaact cgaaacaaca 2340  
tccttttagc atacactagg aataacgaga ggaccgtcag ttccactttg gtttgacagc 2400  
acatgatctt cagatacaga agcagttcta ccattaccat gcgcatttgc accacggcgt 2460  
gtgccttttg cgccattgcg agagctagaa tcatctctca acctcgaagt cacttcagtg 2520  
tcgttcgctg gaaccagagc cagctctctg gigtcttcg agctcgagtc cagcaagagc 2580  
gggtccttct cgcgcgagtt g 2601

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 1333

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker G2155 MwoI

&lt;400&gt; 21

```

ccctctgctt gatccagtgt acatccatgg gttaggacag attagttact cagttaatta    60
agtgtgagac tggaaaaaaaa tatctgacgg cagtittata agttgagtga ttgaactagt    120
gaaagttcag ttaactgtca acggctgtag atttgggaig gcagactgtt ctgagtcaaa    180
atgaagcttt tactgtgcgt ggttaccagg tgcagtaaaa taatttcaga tctaatacgca    240
gtaaaaaaaa gtagtactat atgtaagac gagattgggtc ggtcaaaatc tatctggccc    300
tttacatctc ccaaagtta cctcagttgc aggtggtaaa aaaaaatcac tcgtttcacg    360
tgaatgtcggc agatcatgga ccatgtctca aatgctgaaa ctctgaacaa tcaacaaaaa    420
aatccaacca gatgagctgt gcaactgata attgatcatc acactatttg caactcatct    480
ttcatgtaga tggaaacttca atcccgaaga aataatgaca gcaaaatgct gcgattcctga    540
agaaaggatg gcggcaaaaat ggcagcgata aaaaaaaaaat ggttggttac tgaagaatta    600
tttgtgcagc agttgagaca gtagcaagat aagagctagc taagctagct aggtagagtt    660
ggatggaaga gtagtagtat gagatagagc atggagcgcg acaactcaag tggatgctaa    720
agtaaaaggc attctcttct ctgttttgga atcagaaaag aaaagaaaag acttgagctg    780
cttggctgga atgttttggtt ggatcatgcg cgctctcctt agcttagctc gccaaagaaat    840
cctcgcttca tctctctcaa taattcaaag ccacgagctc tctgctcata tccagtgcga    900
cgattcccggt taatgcaaat gcattatata cagttcgaaa tgttacaatt ctigcgtttg    960
cagcaagcca gcaagtgggtg tgaattgttt aatccctcgt gcatttcaac gaaattctct 1020
caciaattcg cattgacttc ttctttagca caattagtaa gcagtgacaa ataaagaatt 1080
tttgaacagg atgtctttcc aaggaagggtg agatttttta tgtggatagc aaggatcgcc 1140
tttccttagc atgaagagaa tgtgatcaac tttaacacctt gcttacgatt atggccttaa 1200
tttttgatac cctaaacagg agcacatcac atgcatgtcg acctgagacc accaattaac 1260
tgattaagtt ggcatctcag atgcatccgt cagttacatg atcaggtgat cgatggatca 1320
actgtagggtt tca

```

1333

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 863

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker G291 MspI

&lt;400&gt; 22

```

cgaacaggat caaaagtaga cgacgagggc atttagaagg agaggaattg tatttggtcc 60
cggtatttaa tttttaaat tgggtcgga agtttcggaa gaaaaaatgt gtcattgagt 120
gattattggc tctgaacacc aacctctctt ttcgttgatt cttctgagg tgttgggtgt 180
tgggacacga tgcctgcgcc gacacgacac cgggttccac aatacactaa tctactcgcg 240
acaccttcat tgaactgcat ataattat t agaaagtcca ttaacacatc ttataaaacc 300
ttgttgaatc atataatcat tctataaagt ctatttgaac atcttatgaa aaaataagat 360
ctgacctagt cgttacactc tcttacattt tccattagcc taactaattc cgtgcaggaa 420
acgccccaaa ataatagtac caatagtcca ctaatccgt gccagaggcc gccaatgatt 480
agtgattaac ccaaaaaaca taatcatcat cacacgccgc taatgaccag ctctcgctta 540
gtcatccca caggcggccc ccacacgcca ctcttgccat gtgggcccac ctctcacacc 600
ccccaccaac cagaaaaaaaa actcccccaa aaaaaaaact tttaatgctt atctcgcggc 660
agtataaaag gcgacccccc caccacaca caatcacagt cagcgaccca acccaacccg 720
agccgaggag tcgagtcgtg tgaaaattac gaaattgccc ttcgactcca ccaccaccac 780
ccaccggcga ggcgaggaga ggagaaaaat tgggaggaaa aaaaaaggga aaaagaaaaa 840
gggtggagga gat tttttgcg aag 863

```

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1510

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker R2303 BslI

&lt;400&gt; 23

```

tgccatgaag acctatggaa agaatactt ctctcactc tgtgaatggt gagtttactc 60

```

```

tctgtaacat ttagggctag gtcgaaggaa catgaagcat tgctgattca ctccactgtg 120
tttttttttt ctgtataggg ggaaagaaaa tccigtctaca tgggcaggcc gcatgggttaa 180
cagctggaga acaactggcg acatcgccga caactggggc aggttctact catcctctct 240
ttaacccigt ttaacatagtt cttgagtttt tcagtlactga tcglaattgc cctgttattt 300
cagtatgaca tctcgtgcag acgaaaatga ccaatgggct gcctatgctg gacctggtgg 360
atggaatggt aagaacttga gatgtatctg ttcctagggt gccttaacat ttgagagctt 420
caaatgatc aacataigt tctgctgtgc aataicagat cctgacatgc ttgaagtggg 480
aaatgggtgg atgtctgaag ctgagtlaccg gtcacacttc agtatlctgg cactagcaaa 540
ggtaccatag catgttctat gtactaataa ttttgcctga atgttgaact tctttgcatt 600
tcttcactgc aagttttgct tgaattgttc aggtcctct tttgatcgga tgcgatgtgc 660
gctcaatgag ccagcagacg aagaacatac tcagcaactc ggaggtgatc gctgtcaacc 720
aaggcaagcc ttctcagttt cacatgctta gatitagcca tacctcttgg atatttcacc 780
atactcataa tgtaactctc tgaacagata gtctagggtg ccaaggaaag aaagtacaat 840
ctgacaacgg attgagggtta tcccttcaat ggcttccaaa tttgcagttt ctcatlgtcc 900
cataagccct ggcatgatca tgactaactc tgaagctgac aatactttgt glaaatttgt 960
cggtagggtt gggccgggccc acicagcaac aacaggaagg ctgtgggtgct ctggaacagg 1020
cagtcatacc aggcaaccat cactgcacat tggctgaaca tcgggctcgc tggatcggtc 1080
gcggtcactg ctctgtatct atgggcggta aagccittgc tttcttcaga gctcaaagta 1140
gaacatcttc tcttcagaat tcagagttca taacaaattt ctgtcaattg tgcagcactc 1200
ttcgttcgcg gctcagggac agatatcagc atcgggtggcg cctcatgact gcaagatgia 1260
tgtcttgaca ccaaactagt cagcaaagaa aagcagcaca ggtagtacg tgtccggcga 1320
atacagctaa attgatcagg attcaggaag aaggtttgca atttgcaagg attggttagag 1380
ctggaaatgg gatgccattt ggttatgtat gtagaaataa gctgtaagcc tgtaagcgta 1440
tatgtaatca gccgtcaaat gctggcgagt gtatttctga agtttgcaac gaaagttagca 1500
gcaataaaaa                                     1510

```

<210> 24

<211> 1016

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker BstUI

<400> 24

```

tggggattct tttctttaag caatttaaca ttattgtcct aacaatatac acaatatattgg    60
tttttctttc agtatcaaat aattctttta cttttgaaaa cacatttgca atgtgttgga    120
aacacaatta tatcttgcaac ttcccttttg aaatttaatc atttgaaaac tgattcgcgt    180
ttcatggctg taatcttctc ttgcgaacat cgctctttct ttgatggttc tctgttgaga    240
agaagagcaa ccaagtaaat tticgaaatg tttttttgtt ctttctattc accattgcag    300
gttgtcaaag ccatcgagaa ggccataccg aticcgagag cgcaacccat tgccttggat    360
ggcccagcaa gggaagagct gaaggccatg gaggcgcaga aggtcgagat cgaccgcacc    420
gcggcgctcc aggtgcgccg tgagcttttg ctggggctgg catacctcgt cgtccagact    480
gccggcttca tgaggctcac attctgggag ctctcatggg atgtcatgga acccatctgc    540
ttctatglga cctccatgta cttcattggc ggctacacct tcttcctccg gaccaagaag    600
gagccctcct tcgagggctt cticgagagc cggttcgcgg cgaagcagaa gcggttgaatg    660
cacgcccggg atttcgatct ccgccggtat gacgagctcc ggcgagcctg tggcctgccg    720
gtggttcgga ctccgacgag cccctgcaga ccgtcgtcgt cgtcgtcgtc gtcttcgacg    780
caggagagcc attgccattc ttactgccat tgccaatgat ctttgtgctg ttctgttctg    840
ttgtcagaat tttttcatgc ccagtttatg ggggttaagc tagcttctcc attgtaccgt    900
tctgatgtgc ggatgatgcg atgcaaagca tagtttgttg aagagatgac aaggcagatt    960
ttagcttgaa aacctggagg tgagaaaaaa aaatcctgat gtgttttgtgt gtgtga    1016

```

<210> 25

<211> 676

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker S10602 KpnI

<400> 25

```

accaccitca tatgaagaaa ttaacggtgt ttcatgagg aatccaacag tcgctgaatt    60
ggtggaaact gtggaaattct tcttggctga ggtaaccaat catcattca ccacaatgca    120

```

```

caagtttgta gcttactact acagtacttc taataagttt tgtctgttga gattttattg 180
ctgatttcta tgcatgggtca tctttttgac aggccatcca gtcttatcgt gctgagagtg 240
aaactgagct caacctggca gctggigact atatagtgtt ccggaaggta cggccctatc 300
ttcccatlgg acatgtttct aaccataaac atatctttgc tggacttttg tgggcaaagt 360
tggctacact aaacttgtgt tcattaacct gctcaatcag gtgtcaaaca atggatgggc 420
agaaggtgaa tgcagaggga aagctggctg gtcccttac gactacatcg agaaaaggga 480
ccgtgtgctt gcaagtaaag tcgcccaggt cttctaggcg ttcaatgagc catacataca 540
taaccttggg gtgtgtacact gtattatgat cgttcgtgat cttcaaagac cctctgatca 600
gagaaatcac aaatatcttt ttgttctatt attgtcatta tcactacccc ttttgtcaaa 660
accagtcag cctttt                                     676

```

<210> 26

<211> 1059

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker Tsp509I

<400> 26

```

gcgagatcat gaacttgatt ttctgggtgc catattgggc ttgcttggtta accttgtaga 60
gaaggatagc cttaataggt aagtccttca catgttccct tccatttgct caattcataat 120
cagtgttact gtcttggcag ttccctgggg tcaggactca gaaacatcca attaatgttc 180
atgttctctt aacgactcag aaatacttta taacctctcc acagggtacg gctttcatct 240
gcccgtgttc ctgttgatct atctcagaat ccacagagtg aagagacaca gagagatgtc 300
atagcactcc tctgttctgt attcttagca agtcaagggt ctagtgaagc ttctggaact 360
atateaccgg taattcaaaa ttcttcaagt tccctttgta tglagattat atctttgtaa 420
aactcggcat ttattacctg ctctttgttt caaaaagcag tattttatit tgctccttag 480
cataggtcag cagaacagtt gatcttattc agaaaacaat attttgcatg taacatactg 540
ttatctatga gatgaaaatt aatgcatgtg taataatgtc aatgataaat atttgctatc 600
tgaatccagt ctaccaactc tagttagacc gaattactga gggtctatit caaagaataa 660
tttagtgcac catttggtca actactatga agtaaaatgg tattcccttc tattgacatc 720

```

gggttagaag tgaaaggcca tcttaatgcg atgttctcaa tgccacaaac ccacaaattt 780  
 cattaacaca tacagattat tattaacata gctataaatt ggatttccag aagcttgagt 840  
 tgaatttatt ttgttacaat tgaaagcact gggaacatta gcatTTTTTT ttagttcttg 900  
 gttattgcaa tttataatgt tatacagaac tgtgtacctc acaatgcatt cattatgaca 960  
 ttctatgaac catttgattg actgttgctt gtaaacaaca ggatgatgag gagtctttga 1020  
 tgcaaggagc acgggaagct gaaatgatga tegttagagg 1059

<210> 27

<211> 76363

<212> DNA

<213> Orza sativa IR24

<400> 27

gatcaactaa caacctcttt gcagcaaaaa agcatacaca caagtgtttg tcttggcctg 60  
 gggctctgca gatggactga tactctgacc tgcagtgggc ttgggagcta acaatggttt 120  
 cattcttttt ttttttatgt tttccctgt tgtttttgct catgttttgt gtaatttttt 180  
 ctctcatct agcgaigtta ttttcttag catgatggga gtagccctcc ttttttttc 240  
 tctaattaag tgtaaagtag caacagcata gggatgaatg ttcagtgtag tgtgtggtgt 300  
 ttcagttatt cagagacgtc catacagttt gtacctgtg accacacgtc ttaatctgat 360  
 gaagcttaga ataaatcaca tgttagcaat gcaataicat ctgcgtcttc tctcactttg 420  
 gtggccatca aattctgtgt agaagtgtat ggltgggtgt ctgttgcaaa tgccgtattc 480  
 cgctctgttt tgtggaagtt aagaagtcct tagttgaaat accgattttt catgatctcg 540  
 gagatgatg caactctgat tgcagcattt ctttttatta gaatgtacac tccatgctat 600  
 catgatgttt attgtttagt actacaagat ttggttaacc attattttta taccataata 660  
 attttataaa atcttggagt aacaagttca taatacatga tagcataact ttttgaggct 720  
 agtctatgta tattgtctcc ttgtttttta aactaagcac tcaataaatt attgatggct 780  
 gtaattttct gaaggtttca ccggtttcgg cccgtgcttt ataaatagct tcggcacaaa 840  
 agacaaaacg gtccctccaa cacataaalg gttgagtta cgttttcatt atctttggta 900  
 aatcaagtc caccacgtag acactcataa caaaagtttg aatatcctca gaaattttga 960  
 cttgagtcta tcttaccttt gatateggac atccaacctt ccttccctcc ctgaacttta 1020



tattattcat attacaccig aactttatat tattcatatt acaccctgaa gtgggttttca 1080  
tttaattgca tacatgctga aatagtttga caacgtgaga tgcactaaaa atctacacgt 1140  
tcgtcttaag ttgcaattca ttttatccct tttctttttc tctcttacat aggaatatca 1200  
atagtactaa ttcacattac aatataglat aaattggtaa tcgattattg gcaatatact 1260  
atattaaata ttcaaaacta gtcattiaag ctgccaaata agtaaaccac tatcgaaaac 1320  
cacaatataa atggcattac aaaacttagg gggttgaata tccaatttta aagttcatga 1380  
tgctagagga atttctatca aaagtttatg ggtacataig gactttttcc tttttaaaag 1440  
aagctattct tgtcglaaac gttaaatatt ttttgtactt tattttttat gattgaaaaa 1500  
aaaacttagt tttcaaaatg attggctcgt atacaagcat caattagact taataaatte 1560  
atctaacagt ttcttggcag aaactglaat ttgtttttgt tattagacta cgtttattat 1620  
ttcaaatatg tgtacgtata tctgatgtga caaccaaacc caaaaatttt ccctaactcc 1680  
atgaggcctt acagatatai ttgatgggtg taaagttttt taagtctttt gggtgcaaag 1740  
tttttaaagt atacggacac acatttgaag tattaaatat agacaaataa caaaacatat 1800  
tacatatctt gctgtlaaac aacgagacaa atttattaag cctaattaat ctgtcattag 1860  
caaacgttta ctgcagcatc acattgicaa atcatagcgt aattaggctc aaaaatatte 1920  
gtctcglaat ttacatgcaa actgtglaat tggttttttt ttctgcaaca ttttaatactc 1980  
catgcatgtc caaatatttg atgcgatctt tttggccaaa ttttgttggga atctaaacaa 2040  
ggatcaaatt tgcitgaattt ttccagacgt cacggcttgt tcatccatcg ttgcategc 2100  
gattcgccac cgacgccttg gtttccaacg aattttatca tccgcttaaa tacatccaaa 2160  
gtctctccatc gccatcggcg gccaacggcg accgctccgc tctacccaat ccacccatcc 2220  
actcgccgcc gccccctgat ccaaagcctc cgccgcgccg ccgtcgagag gaggaggagg 2280  
aggaggagga ggaggcgtga gcccctatgg ggacctcct cgggccgcgt ccgcttgccc 2340  
acgccgccgg cgccggcgac gccacgccgt cgaccgcgca cggtagccac gcgcctctcg 2400  
agaggccccc ccccccgcc gctcgctgat ctctcttctc atcctgtttg ggtttgggtt 2460  
tgtgatttgg gtgttttttt tttttccgca gcggtgggtg tgagcgggtg ccgcggccgt 2520  
ggcgtggagt gccagccgca tcgggtgcgc cgccgcccg gtcgcaggt tgcggtggcg 2580  
acggcgagct ggaggaggcg gagggagacc gtggtgagat cggatttcgc cgctgggtgt 2640  
gccgctacca tgggggatc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct 2700  
tctcgcaaaa tgtgttgcta tgttccctc gctgggcctg cctcatagcc attaatgtag 2760

tttgctggaa cattacattc ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat gtggaaattgt 2820  
ggaggggaga aaaatcgitt gaaccigcag tgacaaaatt gccatctata attttaaaac 2880  
tgaagggtgt gaaatcaaac ataatcatgt ccagcacatc attcttgtta accaccttga 2940  
catattgttg gcttataaca gttagcicca caccaacttg gaagggtgtca atggaaatgia 3000  
agtataaatt gaggataact ggcagttgtt aagactttct acagaacttg tagcagctaa 3060  
aactagctat tgtgcatitaa tgtttcatgg aatttgagcg gcaatggata tttcttacta 3120  
agacgtataa tgcaaaaaaa aaaaaaaaac tatgtctatg cagttttacat gtaatgtgcg 3180  
gatgcaaata aaatcatgtt catggacaaa ctaatgggat tcataccaaa ticcagaatt 3240  
gcatttctta tgtggttact tttgtttgtt gatttgggtta ccagacatcg atgtgggttc 3300  
aagggtcaga ggggttttgt tctacgcggt gacigcagtt gcagcaatct ttttgtttgt 3360  
cgccatgggt gtgtgttcac cacttgtgtt cctatttgac cgataccgga ggagagctca 3420  
gcactacatt gcaaagattt gggcaactct gacaatttcc atgttctaca agcttgacgt 3480  
cgagggaatg gagaacctgc caccgaatag tagccctgtt gtctatgttg cgaaccatca 3540  
gagtttcttg gataatctata ccttctaac tctaggaagg tgtttcaagt ttataagcaa 3600  
gacaagtata tttatgttcc caattatgtg atgggcaatg tatctcttag gagtaattcc 3660  
tttgcggcgt atggacagca ggagccagct ggtaatggctg tagtctcatc cctgctttct 3720  
taagtagaca tatatacatt tacagtatit ggtaaataaa caagatttta tgaatcatat 3780  
atgatttttg ggaaaacaca aaactctctt tgttggctgc ctigaacata gttctgttca 3840  
cacagttata gcaccttctt taaaatgaag aactttgttg catacacata aggccaaacc 3900  
acataatgaa ttttgtttat tttatctttt gaatgttagc atcgtttttg tttaatgcat 3960  
gatcgcttc ctatataatt gtagtatgtc aacattgtat tccatgctga gcataacaaa 4020  
tggtttgtta aaattcagga ctgtcttaaa cggigtgttg atttggtgaa aaaaggagca 4080  
tctgtatttt tctttccaga ggggactaga agcaaagatg gaaagctagg tgcatitaa 4140  
gttcagtaac caaacttagg ttacattaca tctaatgaga tttttatatt cagtatataa 4200  
tgttaacctt ctcatgggtg actgacgttg ttataaatgt ccccagagag gtgcattcag 4260  
tgtggctaca aagaccggtg ctctgtgat acctattact ctctcggga cagggaact 4320  
gatgccttct ggaatggaag gcattcttaa ttcaggttca gtaaagctca ttattcacca 4380  
tccaattgaa gggaatgatg ctgagaaatt atgttctgaa gcaaggaagg tgatagctga 4440  
cactcttatt ctaaacgggt atggagtgc ctaaagaaag atgggtgttt tttttattat 4500

atggaaccta ttcaaaggca cagacaggct ttcaaggcta agcttgttac aggtactgat 4560  
actagttact aattactttc gtaatcagta taaataagct tgtgtagtgt aatggcattg 4620  
tacatttctg cacttggtaa atttacagaa gaggcaagta atattttaga ggattgagtt 4680  
tattcaccca gtcatatagt tgaagaggca agtaacctgt aagagaggac tgaacattaa 4740  
cacctcttgt tcgattaaaa atgaccaaag agcatcaaac atgtattcga ggctgttact 4800  
ttagataatgg cccatttaatt tgtttagtgt tctatgtaca tcctagtgtg tgtaaatgcc 4860  
agttaccatt tctatgatct aaaacaatca actcttttag tataattttca aaaacgaaat 4920  
tcagtacaca tgtatgaatc ttaataattct tctctagctc gtlacaaaag caacaaaggc 4980  
accgtgtcag ctgggtcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 5040  
tttcatgcat atcatgctaa ttigtctggc cacgttgagt gggaattttt ttcattgttt 5100  
ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttcctgagcc 5160  
tctagtatgg ctgatagcag actagggtgt gagtgcgtgc cttttttgca gactgaagag 5220  
agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 5280  
ttacttttgc cctattttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 5340  
tcttaattta ggagaagttg ctctgttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 5400  
tcgagtcgtt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg gcaggccagg 5460  
attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa atttttagct 5520  
acttgcagtt agtgcgtcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 5580  
aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 5640  
ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggtaagaatg giatccggaa 5700  
gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 5760  
cttaagttag cgatatcaaa ttigggggaag caccaaagga attattgtga aggagttagt 5820  
ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatattt atctgctagg 5880  
ttcaaatcct agtgactatg aatatataat ggtaaggtaa gggatttatt gtttaatttta 5940  
gtttctttta gattgtgcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc ttigtattgg 6000  
attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcctta ccttttcac tgtttttgcg 6060  
ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctc gctcaacttg acaattactg 6120  
cgtgtcaagc gatcttatac gcatactaig cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 6180  
cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaatg atgttcattt ccttgatgaa 6240

ggaacaaaga ctttttttaa aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 6300  
tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta aaaaaaatac 6360  
ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 6420  
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaagggtg tgtgcatctc 6480  
tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacia acattaatcc acgttatgta actttttttc 6540  
gccggaaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctaccggga gaccgcgcag 6600  
gcccccttt gccggttcgg ccgggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 6660  
aagggttcgcg accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 6720  
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt gggggatctg tgtatgaagg agctacaaag 6780  
tatgagccag cctctccctt gtctcgggtt ccgaatctgg aaaagtcag tccagtcctc 6840  
ccctctaagt gggcaaggct ctccttttat atcttaaggg gataccacat gcaccatctc 6900  
cctcctttct gtggagactt accctacctt ttcataaatg gacggagatt tgtatagttg 6960  
ccgtccgaat gacctctga taggacggcc catacctacc tccacttccg ccgaaagcag 7020  
gtgcgacgtg ggattatggc tgtctgctga cgacatgacc agtctcagac tggtcacaaa 7080  
ttgtctattc ctgtccacca cgcgtcagtt tagcaatcta catgttggcc ctctctcaca 7140  
caacatcttg cctgtaatgg ttaggatgaa gcctggcata tatctaacca ggactaacgt 7200  
gccatctcta ggaggttaaca cgctagctcc agctggggac gagcgccctag aagccctcgt 7260  
cctgacggga tggggcgagg cgtgcgtcag atcgccgtgc gccacctaac ctgcgactctg 7320  
accggtctgt gactgggtac agaccggata aacgagtgca ctgcacttct ttacatgcag 7380  
cgtgacacgc tcagccaaac cgcaataaat gtgggttaggt gagccccgct gtgtctacct 7440  
aaccataca cgcggagcaa aaaccacga ggggtcgggg cgccctcgcc ctcggggccg 7500  
aggcgggtgc ggtccgacct cctcgggggg actaagagga gggcgaacac atcacctctg 7560  
ggccccgacgt cccccgaggg tgccaggcca cgtgggcgat tgtgtctgcc tcaaacctct 7620  
agtcatgata ctctgatcc catgtcaccc acagtagccc ccggcgttat gccagggcga 7680  
tcgccccctt taagggaagc ggtcgggcgt gacgccactc ctaaggcctg gtgacagggtg 7740  
ggaccggctt ccacaattgg gcagaaacct aacggtcaca aatcacgcac atcggcaatg 7800  
gtaactctac tatcaataat gagcggctc ttcaagactg ccacattact cgagtagcac 7860  
acgaatctgg acatggcgat tcgtttctgc tggagatatg gtaacgtcgc ttgtgtcggc 7920  
gagcgtaatt aacgcgcgca cgatatgac tatctcgact gccacaaccg cataaccacc 7980

tcatgcgccg caagcgggcg aatgggatta gtggaagcgt gggcgcgaga aacgaggggg 8040  
cgaaatagtg ggcgcgagaa gcgaggagcc gggcacagcg ttggcaagag tataaaggca 8100  
ctgaggaaag gatctgttcc ctcccttttc ccatcatctt ccttgtcttc gccgcttgcg 8160  
ccctaactcc ttctttccctg tgcctctactt tcgccacacg cgtctgcctt caatcttctc 8220  
ttcctccggc gccatggcac ggggctccgc tctgctcgat ggtagcgtgc tgccgccttc 8280  
ccgcatcgtg agcgagaggc aggcctgggct gccgcgcgcg ttcattgccg aatctgccac 8340  
cggccgggag atagtcacgc tgggcgaggg acgcccggcg ccagactacc cggggcggtc 8400  
cgtcttcttt ctcccccttg caatggcagg gctgggtccg ccatcttctt ctttcttcat 8460  
ggatgttctg aagtcttacg atctccagat ggcgcacctc accccaacg cggtagtgac 8520  
attggccatc ttgcgcgcatc tgtgcgagat gticattggg gtgcgcccac ctcttcggct 8580  
gttccgggtg ttcttcaccg tgcagtcggt gtcgccgcca tcggtagtgt gtggctgcta 8640  
cttccagcca cgggggcccgg tgcctgaatc ctacatcccc tgcgccctcc gcaagaagtg 8700  
ggacgactgg aagagcgact ggttcttacac cccctcgcg gacgaagcgc gcctccgact 8760  
tccgagccag cccccggcgc aggcctccag ctggcgggcg ccggtagatc tgggggatgg 8820  
ctatgacgcc gtcctcgacc gcctggcggg cctacgatcc caggggctca cagggacat 8880  
gggtgtacggc gactacctcc gtcgtcggat tgcgccgctc cagcggcgcg ctccgggcg 8940  
ctgggagtac accgggtccg aagactacat gaggaccac cagggagtca gatgggactg 9000  
ggctccctgag gatttcaaga tagtggctca acgggtgctg aatctcaact ccatggaggc 9060  
gtccctcatt ccccaaggaa tcttccctct ctgcagcgat ccagaccgcg cctccatcct 9120  
gaccattatg acggcggctc gggcctcaga ggagttagct ccaaagggcc acgacggcgc 9180  
aggcgggagc cgtagggggg atcaatctac ccggggaggg ggtcgtgctt ctgggtctcg 9240  
cgacggaggc ccgaggagca gccgccctgc cgacgcccgg gggaagagga agcagggagg 9300  
aacacctccc ccatctcttc cccgaggggg cggggcggtg cgtgccagca gcaggcgccc 9360  
ggagggggcc gcgccgacat cgcagcccga gggggagcgc aagaagaagc ggctccgcaa 9420  
gatgggggag acagaacat ctccaggaaa ccttatttcc cctctaaagt ggtcgtttaa 9480  
ccgacccccct cgcaggttcg tctctcacc ctcgtggctg tattcattct ctcaacgcga 9540  
gttttcactc acccatcttg ttctgtctt ggtcttttct tctgtttcag cgagatccc 9600  
tcgcgtccct cccgccattc caagtcgggc cagictgagg ccgaggatcc ggcgggcgca 9660  
gaggccccga ggcgggaatc tgaccggcga gaggccgcgg atgcctacg ggaagccgag 9720

gagggccgcc aggaggccgc ccgggctcgc caggctcagg aaaccgctcg ggaggaggcc 9780  
 gcccggggccc gccaggccga ggaagccgct cgggaggagg ccgcccagag ccaccaggcc 9840  
 gaggaagccg ctccggagaa agccggattt cgccaggacg aggcaatggc gacttccgag 9900  
 gcagctcgcg atgaggctgc gggcgctcgc cttagagccca ctctctcggg cgacgctcag 9960  
 gcgacaactt ccggggcagc tggcgacgag gctgcgggcg cgtcgcttgg gcccactccc 10020  
 tcaggcgacg cccaggacca accaggctcg agggacatcc ctgagtcggg cacttccatc 10080  
 ggccggcccg gccgcgtggc atcctctcca aggcggctct tccccacgcc ttctatcgcc 10140  
 ccactgagcg cagagccctt tctgcaggcc ttggccgccc caaacaccgc ggtgttggac 10200  
 gggcttagtg cccaggctga ggcctgcaa gcagagtggg cgagctcga cgccgcgtgg 10260  
 gcgcatgtcg aggaggggcg gcgctcagtg gaggccatgg tggaggctgg ccgcaaggca 10320  
 caccgccggc atgtctcgga gcttgaagcc cgtaagaagg tgttggcgga aatcgccaag 10380  
 gaagtggagg aggagcgggg ggctgcccctc attgccacca gcgtgatgaa cgaggcgcag 10440  
 gacaccctcc gccttcaata cgggagctgg gaggcggagc tagggaaaaa gctcgacacc 10500  
 gcccaggggg tgcttgacgc tgccgctgcc cgagaacagc gggcggggga gaccgaagcg 10560  
 gcgtcccgac ggcgcgaaga gacccttgag gcgcgcgcca tggcgctgga agagcgcgcc 10620  
 tgcgtcgtgg agagggatct ggccggaccgc gaggcgcccg tcactatccg ggaggcaaca 10680  
 ctggcggcgc acgagtcgcg ctgtgccgaa gaggagtcg cactccgcct ccacgaggac 10740  
 gcgctcaccg agcgggagcg agctctcgag gaggcgagg ccgcggcgca acggctggcg 10800  
 gacagcctgt cctccgcga ggcagcgag gaggagcagg cgcgccgcac tctggaatgt 10860  
 gtccgcgccc agaggaccgc actgaaccag caggccgctg acctcgaggc gcgggagaag 10920  
 gagctggacg cgaggcgcg cagcgacggg gcggctgcgg gcgaaaacga cttagccgcc 10980  
 cgctcgtg ctgccgaaca taccatcgcc gatctgcagg gcgcgctaaa ctctccgcc 11040  
 ggggaggtcg aggcctccg cttaggcagg gaggtagggc ccggcatgct ttgggacgcc 11100  
 gtctcccgcc tagatcgcg cggtcggcag gtgggcctct ggagagggcg gaccgtaaag 11160  
 tacgcccca accatggagg cctcgcccag cgctctcga agatggccag ggctctccaa 11220  
 cggctccccg aggagctcga gaagacaatt aagtcacct cgagggacct cgcccaagga 11280  
 gcggtggagc tcgtactggc gaggctaccg gccagggacc ccaatttctc tccatggatg 11340  
 gcgctggatg agttccctcc tgggaccgag gacagcgcg gcgcaggctc ggcatgccgc 11400  
 cgaccatac gtccacagct tcgagggtc agccctcgg ctgcgcttcg cccccaactc 11460

cgacgaggag gacaatgccg gtgggtgcaga cgacagtgac gatgaggccg gcgacccggg 11520  
cgtatcggat tgatecccca agcccccgc attctttagt tttttcttct tttccttctt 11580  
ctaaggccct cgggccctctt ttttgtatag atcaacttaa tctgtaatca aaaatgaaga 11640  
aatllltgtg tcaatticat ctltgttgt gtatgagatg aggatgatct gtgacgttgt 11700  
cctllltgct cttagcttga ttaagggtc gtgcccaggt cccagtcctc aaaaggcgtg 11760  
ggtcggggct agtgcctggg gagatccaca gtgcgagact ggccaggccg ggaacgttgt 11820  
gaccgagggt tatgggtgac ccgatttgtg gttllltgcc attcccccc ggagttcacc 11880  
acgccccggg gcacggctcg gtltctgggc ccgtlltgcc attlltagcc acccgagccc 11940  
ccgagggcag gattgagcac gattgacct tttcaagtca agattcttca aaaggaaaaa 12000  
aaaacacaga tacagccctt aggaaattga aactgctllt attgaaatac tgaaataaga 12060  
gaaataagaa tgtgcatgtg tggcagcccc cggccaacgc tgcacgccc aggggggtgcg 12120  
gggtllggcc gagcccgaaa cctgacacc gaccccccc tcaggggtag aagcgacgaa 12180  
ggtgttcgat gtlccacggg ttaggcagct caatgccgtc gcccggtggc agccgtatgg 12240  
agcccgccg ggggacgcg accactcgat acggaccctc ccacatttgt gagagcttgc 12300  
tcaatccagc acgcgtlltg acgcggcgta ggacgaggtc gtcgacgcag agtgatcggg 12360  
cccgacgtg acgctgatgg tagcgccgca ggctctgtg gttagcgcg gccttgaggg 12420  
ccgcgcgcg ccttcgctct tccaagtagt cgaggctatc tctgcgaagt tgatcttgat 12480  
cagcctcgca gtacatgggt gcccgaggag accctagggt gagctcggat gggagaaccg 12540  
cttcgcgcc gtagacgagg aagaaaggcg tttccccgt tgcctcggtt ggtgtagtct 12600  
ggttlgcca gagcaccgt agcaactcct cgatccatga atcgtcgtgc ticttgagta 12660  
tgttgaaggt ctltggtllt aggcctllt ggatttctga attggcgcg tccacttggc 12720  
cattgcctct ggggtgggca ggtgaggcga agcagagctt gatgccatg tcttcgcagt 12780  
agtcgccgaa gagttcacta gtgaattggg tgccattatc cgtaataata cggttaggca 12840  
ctccaaaccg ggccgtgatg cctllaatga atttaagtgc ggagtgcctt tcgatcttga 12900  
cgaccggata agcctcgggc cacttagtga acttgtcgat cgcgacatac agatactcaa 12960  
acccgcccgg ggcccgcta aacggltcca ggatatcgag cccctagaca gcaaatggcc 13020  
acgaaagtgg tatgggtctg agggcctggg ccggctgatg gatttgcttg gcgtggaatt 13080  
gacacgctct acatcgccgg accaggtcga ccgcattcatt gagagctgtc ggccaataga 13140  
aaccttggcg aaaagcttta ccaaccaagg tgcgcgaggc ggagtgggct ccgcattcgc 13200

cttcatggat atcggcaaga agcacaacgc ctigtltccc aggaatgcac ttcaggagga 13260  
ttccattagc cgcgcgccga tagagggtcc ctltctaccag cacgtagcgt ttggagatgc 13320  
gatggacgcg ttacttcctt tcgcgggtcct cgggttaaagt cttatctgtg aggtatgctt 13380  
ggatctcggc aatccaagca atcaatctaa gggagctggg agcgcctccc tcgggtcccg 13440  
aggcctggac ttcgacgggc ctcgggggcc ggtcaggcgc gtccgtctcc cctaagggtt 13500  
cgggtcgcgc cgacggcigg gcaagccttt ctltcaaagg gcccggtggg gtctgggtct 13560  
gcgtggacgc gagccgtgag agttcgtcgg caatcatgtt atcccgctg ggcacatgcc 13620  
gaagctcaat cccgtcaaaa tggcgcctca tacgccgtac ttggcgcacg taggcgtcca 13680  
tctgcgggtc agagcaccgg tactccttac agacttgggt aacgaccagc tgggagtcgc 13740  
ctaaccaccg gaggcggcgg atccccagtc cagctgccac tctgagtcgg gcaaggagtc 13800  
cctcgtactc tgccatatgt ttagtcgtct gaaagtcgag gcggaccaag tatctgagga 13860  
cgtctccgct cggagaggtc aacgtgacct ccgcaccggc gccctgaaga gacaggagc 13920  
cgtcgaactg cattaccagc tgggcgggtg gaggcagctg cgaggggtcc gtgcctggcct 13980  
cggggatitga gacgggcctc ggagccgggg tccactctgc cacaaaatcg gcgagagcct 14040  
ggctcttgat agcgtgacgt ggtltcaaagt gcaaactgaa ctgagaaagt tcgattgccc 14100  
atttcaccac ccgtccigta cctctctgat tatgcaagat ttgaccgagg gggtlaagacg 14160  
taaccacagt gacccgatgc gcctggaaat aatggcgcag ttctctcgag gccatcagaa 14220  
tagcgtaaag catcttctgg gcctgagggt atcgggtttt ggcttcccgg agggcctcac 14280  
taacaaagia gacgggccgc tgcaccttcc ggtggggccc atctctctcg ctaggggccc 14340  
catccctggg gcactcttct tccaagcagc ctgcgggggc gcacttgtct tctgtgtga 14400  
tgacctcggg gtccggaggat aacaggggcg gccttcccac agtggctttg gggccgtcct 14460  
gggggtcagg ggctccctgg gtctcgtcgg aagcgggcaa agggccaact ccggtcgtca 14520  
ggggccttag gcctccgttc ggctcggggg cctcttctcc ctgctcttct ccgggtcgag 14580  
tcagcacagg gttagccctc ggggtcaaagg gcgatagggt cggccttccc acagtggcct 14640  
cagggccttc ctgggggtcg ggggtctcta gcaccgtctg acaagcgggc agagggccaa 14700  
ctccggtcgt cggggggcct agggccaccgt tcggctcggg ggctctctct cctgtctctc 14760  
tcccgggcca agtcggcaca ggggtggggaa gcgcgaaatg agaattatcc tcatcgcgct 14820  
ccacaacca tgcgcacata actacttgcg gggctcgggc taagtagagt agcaagggt 14880  
cgtctggctc cggggcgacc ataactgggg gagagcttag atacgccttc aactgggtga 14940



gggcatttcc agcttccctc gtccaggtaa acgggccgga gcgtttgaga agcttaaata 15000  
agggtaacgc ctctctctcc agcctcgata tgaaccgact tagggcggcc atgcaaccgg 15060  
tgacgtatig cacatcccta agtttgctgg ggggcgcata cgctctatag cccgtatctt 15120  
ctcgggggtg gcctcaatgc cccgggcaga gaccaagaac ccgagaagct tgcccgagcagg 15180  
tacaccgaac acacacttat cgggggtttaa ttttatgcgg gcggagcggga gactctcaaa 15240  
agtttccgct agatctatga gtaacgtttc ctgggtgcgc gtctttacaa ccaagtcata 15300  
gacataagcc tcaatattac gtccctaattg gctaccgaaa gaaattcgag tagtacgttg 15360  
aaaagtagga cctgcattct ttaacccgaa gggcattgtc gtataacaat aggttccctat 15420  
gggggtaatg aacgcagttt ttccctcctc ctccctagcc atgcgaatct gatggtaacc 15480  
agagtatgca tctagaaaac acaaaaggct gcaccccgca gtggagtcga caatctgata 15540  
tatgcgaggc agggggtaag gatccttagg acatgccttg ttaaggctcg tgtagtcgat 15600  
gcacatccga agcttgccgt tcgccttggg aacgaccacc gggttcgcca gccactcggc 15660  
gggggtgacg ctgccatcat atttttcggc gatgggtggg cggaaccttg ggggccaacg 15720  
gacattccga agactcgcca caaaggctct acagccgaca ccaccaaccg ggggcacgga 15780  
gggctgatic ccgcgtccgt gttgaggatg cactctggac gaggaagcgc cctccgttgc 15840  
gtgggcagca ctctgggtcat tacgccggcg ctcatgctg gtgcgggcgt ccggccccc 15900  
acgcagatct ttctgggtcg aaggagtcga cgaaggagtg gcggccgaat ggcgaaacgc 15960  
ggctgccgct cgtcgtgccc tccgtcttga cgacgcggag ccggtggtag cagcaccaga 16020  
ggccttgggt gcggaggacc gccaccagc atctaggcgc tgccgtgccg tcatgactaa 16080  
tttggccacg tcgtccagcc atcgttgggc tggagactcc gggtcaggga cgacaggcgg 16140  
gtgacgtaag agcgcgcccc cagcttggag cgcgccttgg ggcggtgctgc cgtcgccgta 16200  
gacgaggagg cgacgtctcc catctcgccg ttctcttcca tcgccgcga tcggtgaagt 16260  
cgcggatctt tcgacctctt cgagcgctc cccccgctta ggactttggc atggaggagg 16320  
cgggtggagta cgagctcgac ggcggtgggtt cggctccccg tcgtcgccac tcacactcgg 16380  
agagaggctg tgcgccttgg ctgtctcggc catcaggctg aacaggaaaa gcttggcgca 16440  
cacggaagag tacgagagct cagaaaaaca cacactgagt cccctacctg gcgcgccaga 16500  
tgacggagcg tggggctcct caccgggaga ccgcgcaggc cccccittgc cgggtcggcc 16560  
ggggactcaa ggtgaaattc taagctctct gtaatgtgaa ggtttgcgac cgtcgaaaga 16620  
gcataagaca cgggcgatgt atacaggctt gggccgccta gaagcgtaat accctactcc 16680

tgtgttttgg gggatctgtg tatgaaggag ctacaaagta tgagccagcc tctcccttgt 16740  
tctgggttcc gaatctggaa aagtcacagtc cagtcacagtc ccccccctcta agtgggcaag 16800  
gtcctccttt tatatcttaa ggggatacca catgcaccat ctccttcctt tctgtggaga 16860  
cttaccctat cttttcataa atggacggag atttgtatag ttgccgtccg aatgaccttc 16920  
tgataggacg gcccatacct acctccactt ccgccgaaag caggigcgac gtgggattat 16980  
ggctgtctgc tgacgacatg accagigtca gactggtcac aaattgtca ttcctgtcca 17040  
ccacgcgtca gtttagcaat ctacatgttg gcccttcttc acacaacatc ttgcctgtaa 17100  
tggttaggat gaagcctggc atatatctaa ccaggactaa cgtgccatct ctaggaggta 17160  
acacgctagc tccagctggg gacgagcgcc tagaaacctt cgtcctgacg ggaatggggcg 17220  
aggcgtgcgt cagatcgctt gtcgccacct aaccgcgat ctgaccggtc tgtgactggt 17280  
cacagaccgg ataaacgagt gcactgcact tcgttacatg cggcgtgaca cgctcagcca 17340  
aaccacaata aatgtggta ggtgagcccc gctgtgtca cctaacctat acacgcggag 17400  
caaaaacca cgaggggtcg gggcgccctcg gccctcgggg ccgaggcggg tgcggtccga 17460  
ccccctcggg gggactaaga ggagggcgaa cacatcacc ctcgggcccga cgtccccga 17520  
gggtgccagg ccacgtgggc gatttgtctt gcctcaaacc tctagtcatg atactcctga 17580  
tcccatgtca ccgacaaggc catccgaatg tattaaggag taaaagtac aagaaaaaac 17640  
accataatgc accaatgtgc atgaccacac accatacact accccaagc acaaaccact 17700  
gagggatgaag cctagcacca aacgaccgcc actaagtgtg accaaacgcc gctaggccta 17760  
cggcagcaac acatagatga gacttcgaaa acgatgccac caaggtggtc acgacatcta 17820  
ggatgctgcc atcgctccatc taaaaagatg tggttttcac ccagagaaac tcatcaagaa 17880  
ggggagaggg taaccttga cagcgcccca aggaggttac gacgcccga ggcgtagccg 17940  
ctgccggctc ggtgaaccac cggactaggc ttcgcctag gaccctatag ccttgatcgc 18000  
agatcacctt ccaccactca gaaccaccac acagacaaaa ggtagcacgt agcttccacc 18060  
acaccgcacc gacgccccct cgtcggccga ctccatcgaa ccaccatccc tgagagctgg 18120  
cccaggacc ctcctgtcca ccaccgccg gccgccttgc cagtittggc caaaggagaa 18180  
cccgggactg ggtgacattg cttcggcagc ctgagcttcc cccgctggcg agctgtctgtc 18240  
tcaatccaac ctagaaactc cccgcaaaag aaggggatga gctctaggaa gggcgagggt 18300  
gccgaccggc aacgaggaag acaaccatc gactccagct cccittgcac taccatctgg 18360  
ccctgcgcca atgccggata cgctgtcgtt ccggctccgg cgccaccac ctgcaccccc 18420

tttgccitggt ctccgcgccc ctccctggctg cgtcgcgccc cccagctggc cgctaagggc 18480  
accgcgacgg ccgcccggct accgaggcct ggccgcgcca tgggacagct cgcgctggca 18540  
ccagcgagcc acggccgctg cgcgtgttgc ggccgccagc agcacaaccg ccagctccaa 18600  
gggcccagca igccacitgag ccgcccgcgc igccgcccgg gccggctgca cgtcacgggc 18660  
gcacacgacc gcacgccgcc acgctccgcc tccgcgcccg aggcagcccc atgccattgc 18720  
cgcgcacctc gcccgcggc igccgagccg ccaccgcgca ccttgcitgag ccgccaccgc 18780  
cgtccctagc cgctcgtgc cgccgccacg ccagatccag gcgcgggatg gccggatccg 18840  
gccitggggg cgccggatcc accgcctccc cacaccgcca cggcgtcacc acctccgacc 18900  
gcagtgaggg ctctcgtcgtt tgccccatcc tcatcgcgtc gaggaggaag acgccaagaa 18960  
aaaagggcct cgccgctgcc ttccitgctc gctgccggct tcgccgccgg cgagctccgg 19020  
cggcggcgag gtgggggaga agaagtgggg agtgggcagc tagggttttt tcgccccca 19080  
agccgcccgt gcgagagcga cggitggggg gggggggact ttccaacctc ttccagtgtt 19140  
ctagtctccc acgttatgta actcaatttg tttaaccata gaaagtaaga aacctaccag 19200  
cgtgttaagc tctctttcat tcccittctt ctccctgggt ttgcttccat cacatgtcaa 19260  
gtgaagggtt cttaactacc attactccta cacatctaattttttctca gatctttcgc 19320  
aggiatatat tgatgttaca ttttatgata ttaagataat ctccctcaca ttacctctg 19380  
ctgaaacttt agcttgaacc gtcacttca ccacaatttg agcccaattt gcacagagca 19440  
caacgagcaa tagcttgcce ttacgttcat tatittagcat gaactactac taactacca 19500  
agaatcaata caccggttta ataacgcca tttatcacgt taatatatgt ttcatccaac 19560  
acaccggttt tggcacagtt gcaaacttgc aataaattct ttccctacttc tccatcccat 19620  
aatataacaa attggtatgt ctctgtctgt actaagttac tatattatga gatggaggga 19680  
gcacttcttt tcttccaaaa tataagaata tagtattgga ttagatatta tctagattca 19740  
cgaattcgat taggttgctc agatttatag ttgtatgtaa tgtataattc ggtaataggt 19800  
tattacctct caggatggag ggagtagttt tgactttttt tttcttataa atcgctttga 19860  
tttttatatt agtcaaattt tatcgagttt aactaagttt atagaaaaaa attagcaaca 19920  
tttaagcacc acactagttt cattaaattt agcatggaat atattttgat aatatatttg 19980  
ttctgtgtta aaaatgctgc tatatttttc tataaacgta gtcaaattta aataagttag 20040  
actaaaaaaaa atcaaaacga cttaataat gaaatggagg aagtagtaga ctataacaaa 20100  
tttaaacgt gctttgattt tagagcatca ctaatagtt agcaataatc tatccctaaa 20160

atttattttt tttcctaaac tgaaaatagg aagtggaaat actcctccat ctaagagaga 20220  
gcctaaatic aataaaaaac taaaaaacta aaggtaggac cctctattaa actaccgcaa 20280  
aaaattttatg ttttttttct ctccacgcg cgcagaacag atatctcgat caagttagca 20340  
tgtaaaatit ttaaagagat accttatacg actccttccg tatttccaaa agcaaacgga 20400  
tttaaaatct gactcaaata aagatctata tatccaatit acatgacaca tgtttcgccg 20460  
aatitttata ttaataataa ttaatatit taaaattaaa ttattagcaa ttgttttgga 20520  
ggattttatca aaacaggatg gacgttgitt ataacagcgt ctagacctag acgcgcttgc 20580  
aaactgcggc caccctttta tcacacaaat ttttgacaat ttgacacttt ccaaaaatta 20640  
atitttataaa ttaaccgiga ccaaaacita tttaaaaatg atctttttgt tgagcgcaaa 20700  
atcgtatact tcagcgccaa atagcacggc gccgacctcc ccttccccct cccctctatc 20760  
ctccactgct gccgcccacc tctccgtatc agctgcgtcg cgtttggttc cgccggcgct 20820  
gctgctgctg caccagtccg ctagggcggg cgggcatggc gcgccgcgcc gcttcccgcg 20880  
tccgcgccgg cgctgttggc gcccttcgct cggagggctc gacccaaggg cgagggggcc 20940  
gcacgggggg cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccggcggtg 21000  
gcagggggcg ctcgatctac ggcttgaact gcgccccgcg cgacgtcgcg cgtcacagcc 21060  
ccgcggccgc cgtgtccccg tacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggttaactc 21120  
ccaacttggt cacctacggc attctcatcg gtctctgtg ctgcgcgggc cgcttggacc 21180  
tcggtttcgc ggccctgggc aatgtcatta agaagggatt tagagtggat gccatgcct 21240  
tcactcctct gctcaagggc ctctgtgtg acaagaggac gagcgacgca atggacatag 21300  
tgctccgcag aatgaccag ctgtggctgca taccaaatgt cttctcctac aatattcttc 21360  
tcaaggggct gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctc caaatgatgc 21420  
ctgatgatgg aggtgactgc ccacctgatg tgggttcgta taccactgtc atcaatggct 21480  
tcttcaagga gggggatctg gacaaagctt acggtacata ccatgaaatg ctggaccggg 21540  
ggattttacc aaatgttgtt acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 21600  
ctatggacaa agccatggag gtacttacca gcatggltta gaatgggtgc atgcctaatt 21660  
gcaggacgla taatagtatc gtgcatgggt attgccttc agggcagccg aaagaggcta 21720  
ttggatttct caaaaagatg cacagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact 21780  
cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcacgga agctagaaag atgttcgatt 21840  
ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt 21900

atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgaig gtacgaaacg 21960  
gtateccaccc taatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct aaacaaggga 22020  
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccggata 22080  
cagtgacctt tggaacagtt ataggcatac ttigcaagtc aggcagagta gaagatgcta 22140  
tgcgttattt tgagcagatg atcgaigaaa gactaagccc tggcaacatt gtttataact 22200  
ccctaattca tagtctctgt atcttigaca aatgggacaa ggctaaagag ttaattcttg 22260  
aaatgttggg tggaggcatc tgtctggaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 22320  
attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgacctgatg gtacglattg 22380  
gtgtgaagcc caatatcatt acgtacagta ctctcatcga tggatatigc ttggcaggta 22440  
agatggatga agcaacgaag ttacttgcca gcatggcttc agttggaatg aaacctgatt 22500  
gtgttacata taatactttg attaatggct actgtaaaat tagcaggatg gaagatgcgt 22560  
tagttctttt tagggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataata 22620  
taattctgca aggtttattt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaaagaa ctctatgtcg 22680  
ggattaccga aagtggaaac cagcttgaac ttagcacata caacataatc cticatgggc 22740  
tttgcaaaaa caatctcact gacgaggcac ttcgaaatgtt tcagaacctt tgtttgacgg 22800  
atttacagct ggagactagg acttttaaca ttatgattgg tgcatigctt aaagttggca 22860  
gaaatgatga agccaaggat ttgtttgcag ctctctcggc taacggttta gtgccagatg 22920  
ttaggacctt cagtttaatg gcagaaaatc ttatagagca ggggttgcta gaagaattgg 22980  
atgatctatt tctttcaatg gaggagaatg gctgtactgc caactcccgc atgctaaatt 23040  
ccattgttag gaaactgta cagaggggtg atataaccag ggctggcact tacctgttca 23100  
tgattgatga gaagcacttc tccctcgaag catccactgc ttccctgttt ttagatcttt 23160  
tgtctggggg aaaatatcaa gaatatcata ggtttctccc tgaaaaatat aagtccttta 23220  
tagaatcttt gagctgctga agccttttgc agctttgaaa ttctgtgttg gagtcttttt 23280  
ctcctacagt cgtattagag gagggatctt ctctttatgt gtaaatagcg aggtatgtat 23340  
gtcacctctc cgaattattt ttactctggt tcctagacgg taaacaagca attatgttct 23400  
gcctttgatg ccagaaaaaa cacaaaagtt tgtcgttate tctactaacg gatcataaag 23460  
gaatttgtaa ctggagtctc aaacttaatt tgtctaggca gtagttttgg cattagatcc 23520  
aacatttgtt aggatcatt tgtgtgtatc aatctatagg gtttcattaa atttcgttta 23580  
tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga ctgttttttt aactgaacaa aagatactga 23640

aatcgttcca ttcaacaaac acatgttccg ttaatgaaat tattgtacgt taccttttgt 23700  
tttcttactc acaagtgtcc tcttttctta tatectatag attggtacaa caaattattg 23760  
attcaatttt ggttttgaac attgatgac ctccttgcac tattggtgca gctgctcttc 23820  
tattcatttt gtgaagtgat gtgagtagct ctcaatccca tecttaigtct tctgtgcatg 23880  
cttcattcca atttttttag catatcgatt gttttctttt atataacagt ccataaagat 23940  
aatcacatca tgacaaagtt atttatttct acagtatagt tatataagta ttcaccagtt 24000  
ttccatgaat attttggcat gtgattacaa agaagattat ttgagaaaat ccatgctttt 24060  
atttcatcat ttgttttgaa gttgaacttt aatttaigtgt gtaaatttca gttattattg 24120  
ctagcagctc gtactcttta atggtataac ttcacttggt cttattctcc aatatctccc 24180  
ttcttgttgt tcaggttcaa gaaaatcatt tgttggattc agaacttggt gtccattttc 24240  
ttcttaaat attaaatcct ccagtgaatc ttgttgattc caaagcacca tcgataggtt 24300  
ccaaacttct tggaaatcagt aaagtacaaa tgcttaatgg atcaaataag gattctgact 24360  
gcatttcaga ggaaatccct tcaaaagtgt aagagattct ctttaagctgt caagtatca 24420  
agtcgctcga caaagatgac aagaaaacaa caaggccaga actgtgtcca aagtggcttg 24480  
ctttgttgac aatggaaaat gcatgcttgt ctgctgttcc agtagagggt aagttttaat 24540  
caaatttctt ggtcatgatt tccctttatg accattatat ttatttataat gagccaaata 24600  
agcagttgtc aacttgtcat aagttacata gcacctattt gcaatattca tgggtggttt 24660  
gcttagccct tttcttcacc tgcttttgat tgatgacttc catctgtgtt gcagaattga 24720  
attggagtag tggactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc 24780  
ccttatcaaa tatttgattg ttacagagac ttctgacaca gtgtccagag ttggaggaaa 24840  
ttttaaagag acatttaagg agatgggagg tcttgatagt atttttgacg ttatgggtga 24900  
ttttcattca acattggaga tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca tttcctttgt 24960  
tcaactctaa tagattgtgc aggttgttc cttttcgcca ttttagcttt aatgcgcttg 25020  
aagccacatg aaagtaatgc ttgtccagat acatagccaa aggttgttat attttggggc 25080  
atggaaaatg cttaggtag taactatttt catcaggaca tggaaaattg gctgcaacac 25140  
aaattatgtt gttttatgtt gcaaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg 25200  
tgttagtata ttacagttcc tctgatgatt atatcccca cgataataac acttgaaacg 25260  
ataataacac ttgacataat tacaccaagt gaacattatt catttggatg ttacttttcc 25320  
agctataact gctgttcttg catgtgtaag caagtttga gtaaattgcg catttaattta 25380

aatgcttggg gticcctatct gtgtactttt tattccccaa ctaataatgc aatcatatta 25440  
cgctgataaa ctgaataaat aaattiaaaa tatacttctg gttggcaaacc ttgtgtatca 25500  
gaatctcata aaggatacat ccacttcagc ttiggaccga aatgaaggaa catctttgca 25560  
aagtgcctgt ctcctcttga aatgtttgaa aatatggaa aatgccatat ttctaagcga 25620  
tgataacaag gtaatgctcc ttatatgttc tgtttcagtt tagtacctat ttctttcttc 25680  
tgtactatct tctctcctga ttgttctgt gcaaaatgtg caaacagtgc gactttgtat 25740  
gtctgcttaa caattttctt ttcttccctga aaaagcaata tgaactctta cattcatttt 25800  
gcttcttgca gaccatttg ctttaataga gtagaaaatt gaaccgaaa cgctccttgc 25860  
tttcttttgt tgggtgtcatt atcaatacta ttgagttatt atcaggtatt ttctttaata 25920  
atacaatgtg ttcgctaaca caataaaatg ttttaaacat ccagtatgtt aaagttgcag 25980  
ctgacgcct attttgtttt gctgcagctc ttccaatact tcagaattct tctgtttgtt 26040  
ccagctctac atatccgaaa tegtctaaag tctctcaaca gatttactct ggtaataaca 26100  
aacaccaatt ttgtttgatc agttgatctc gttggctttt ctatgcactg tctcaatata 26160  
gtttggctgc cattcaagtc tctctacaga tgttgaactt ggcttgacac caaatattta 26220  
taaaatgcta cctgatattt ttaatatctc atgtttccctg acccagattt tcttgttggg 26280  
tcctcgtata agtttaatta gtgacattct tgaagctttg ttatgcagca gatgtcatgg 26340  
ggggaacttc atttaatgat ggaaagagca agaactcgaa aaaaaaaaaac ttttgtcgaa 26400  
ccagacacgt catttgtgtc tatcttcaaa atcagaagtt tctcatatta ctatatcttc 26460  
tggtagtgat gctggctctgt cacagaagge attcaattgt tctccattta tatcaagcaa 26520  
tggggcatca agtgggttcat taggcgagag gcacagcaat ggtagtgggt tgaagttgaa 26580  
tataaaaaag gatcgtggca atgcaaatcc aattagagge tcaactggat ggatttcaat 26640  
aagagcgcac agttctgatg ggaactccag agaaatggca aaaagactcc gtctatctta 26700  
aaatgtaate accgacagtg gtgggtggta tgacctttt gcatttgacc gccgcgtcgg 26760  
cgctgccacc acgtaatcgc ccacgtcgtt gccccgctg ccacgtcgtc gaccgcgcac 26820  
ggtaatcaca cgcatctcga ggccgccgtt agctgataac ttctcatccg gttgatttgt 26880  
gattttggcg tttttgcagt ggtgatggcg gggggcgacc gtggccgagg cgtggagtgc 26940  
catccgcac aggggtgata ggccgcgtg ctccgccctg gtccgcagge ttggcgggcg 27000  
agctggcggc ggaggagac tgtggtgaga tggatttcg ccgtgggtgg tgtcgctacc 27060  
atgggggatt cgccgcagge gctctcaggt ttgcagcctc ctccactctc ttcccttttt 27120

tatTTTTTTT tctcgcaaaa tgtgtltgtga tgttcgtctc gctgggctgg cctcatagcc 27180  
attaatgtag ttltgctggaa catttacatt tggaacgttg ttggcaattg ctttacaaaa 27240  
tgtggaattg tggaggggag aaaaatcatt tgaacctgca gtgacaaaat tgccatctct 27300  
aatTTTaaaa ctgaagggtgt ggaaatcaaa cataatcatt gccagcgcat cattcttgtt 27360  
aaccaccaatg atatatgtgt ggttataaca gttagctcca caccaacctt gaagggtgtca 27420  
atagaatgtt tagtataaat tgaggagaac aggcagttgt taagactttc taaagaactt 27480  
gtagcagcta atactagcta ttgtgcattt gtgtttcatg gaatttgagc agcaatggat 27540  
atttcttact aagatgtatg atgcaaaaca aaaaactatg tctatacagt ttacatgtaa 27600  
tgtgcggatg caaataaaaat catgtacatg gacaaactca tgggattcat accgaattcc 27660  
agaattgcat ttcttaatgtg gttacttttg ttgttgattt gggtaccaga catcgatgtg 27720  
atttcaaggg tcagaggggt ttgcttctac gcgggtggctg cagttgcagc aatctttttg 27780  
tttgtcgcca tggttgtgggt tcatccactt gtgtctctat ttgaccgata ccggaggaga 27840  
gttcaggaaa aaaatttgaa aatacccaatt ttttgaaaaa gatttacgtt tataacact 27900  
agtatgaaga atttgcgaaa atataactaa tccgcagatc ggttatgcgg gagcgcaaca 27960  
aaagtatggc gtggcggcgc ggagtggaac gccgaggcgt tcgcgcggaa tggggctgcg 28020  
ggaccgagcc agtctcgctt gccggtaacg cggaaccggt acgctcccgc agcgccagt 28080  
tgcggaaccg cggcgccaac atTTTTTTT ac tgcattggcac tgtgtttaat actgtttgac 28140  
actgtttctg gtactgtttt acacagttcc cgggtcagtt ccgcacaatg gaggcgcggc 28200  
accgaccatg aacaatgtgt gaacagtgtt gcacagggtt aaaacagtgt ataaactgcg 28260  
ctgcacagtg ctggagtcgc tggccactgc ggttccgcgt tttggaaccg cgggaccgtc 28320  
gcgattccgc gttttggagc tgcgggacca tgacggttcc gcgcaggatc gtcgggtccc 28380  
tatTTTgaat ctgcggaacc gtcgctgtcc cgcgtttcca tttcgcggga tgcgtatatt 28440  
tttataaaac ctctccatgc atgtatataa acataaatta ttgaaaaaat aagtatatTT 28500  
gcaaattttt ttcgagagct cagcactaca ttgcaaagat ttgggcaact ctgacaattt 28560  
ccatgttcta caagcttgac gtcgaggga tggagaacct gccaccgaat agtagccctg 28620  
ctatctaagt tgcgaaccat cagagttttt tggatactta tacccttcta actctaggaa 28680  
ggtgtttcaa gtttataagc aagacaagta tatttatgtt ccgaattatt tgatgggcaa 28740  
tgtatctctt aggagtaatt cctttgcggc gtatggacag caggagccag ctgggatggc 28800  
tgtagtctca tccctgcttt cttaagtaga catatatgca attacagaat ttggtaaaca 28860



aacaagatTT taTgaatcat aTatgattTT ggggaaaaca ccaaactctc tttggTggct 28920  
gcctTgaaca tagTtctatt cacacagTta tagcaccttc tttaaaatga agaactttgt 28980  
Tgcatacaca taTggccaaa ccacataatg aattttgttt atttctatct ttgaatgtta 29040  
gcaccttatt ttcatgcata tcatgctaTt ttgctTgccc acgtTgagtg ggaatttttt 29100  
tccatgtttt ataatttata taTgttctag acttctagtc cacaatttat ctacttcatg 29160  
ttcctgagcc tctagTatgg ctggtagcag actaggTgct gagTgctgtc cattttTgca 29220  
gactgaagag aggagaaata caggactgtc cgtTgttagt cagattTgta aaaatagact 29280  
ctgatgtagt ttatttttagc ccctatttta tatttaacaa tacaatatata taacglatcc 29340  
taagaactta tcgtaattta ggagaagtTg ctctgttTcat taaattaaac Tgtgaagtaa 29400  
aaatgtgtgc tcgagTctgt caatgcaatc ctgtgttctt gttTgaagat atggTtagg 29460  
gcaggctagg atcgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcattTg TgcactTggt 29520  
gctgccacgc cgattaaagca gTagaacaaa gTaatTTgt cgtgcacaaa Tgagttatat 29580  
ttcatTgaaa atcgaagtga aaatgaacca aaagatagaa gaaaagggga aactTggtaa 29640  
ttatatactc cacaaattta ttggtaagat ttgatattag acgctcgatt actTggctta 29700  
agTtaaggat atcaaatTg gggaagcacc aaaggaatta ttgtgaagga gttgtgggtg 29760  
cataacgtta tctactagtt caaatcctag Tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 29820  
gatttatTgt taattttagt ttctttaaga ttgtgtccga gtacaccatt cggtaaTgt 29880  
aataatgttt Tgtattggat tcactTgtgt tacgtgcatg Tgcttttacc ttttcattTg 29940  
tttctgcgtt ctgggtatga attTgacgag attccatggt cagctcaaca tatcagttac 30000  
Tgcgtgtcaa gcgatctat atggTatgcg cacaagcgat Tgtatacgga tatgacagta 30060  
taatgtgtga taTtgatacg atgttccTtt cttttataaa ggaacaaaga ctttttttaa 30120  
aaaaagaagg ggtattacta aaaaccaaaa Tgtcaaaaac aaaatatcag Tgcacatggc 30180  
aagtgtgcac gagcaatagc ttgcccttac gttcattatt tagcatgtac tactactaac 30240  
tacgcaaaaa tcaattcacc gattattaaa ctgttaacat cattttagca cgTtaacata 30300  
Tgtttcattc aacacaccgg tttTggcaca ttTacaact TgcaaagtTg caatactccc 30360  
ttcgTtacat agcataagag attttaggTg aatgtgacac atctatccaa attcattata 30420  
ctagaatgta tcaccgcctc cacgccggga gggagagcgc cgccggTgga gaaaggggga 30480  
gggagTggTc gaggggaacc agtagggTgc cctccccgtc gccgcctccc cgtggccgcg 30540  
ccggcgagac aggaggaaga gggggagatg gagcggcgcc gccggTgagg gcgcgcgtgc 30600

gcggggggggg ggggggggga gcggcgacgc cggtagaggaa gggaagggga gtgggtggctt 30660  
tgagagagat aggggagagg gaaaatgatt ttagagttag ggtttgggct gctgagtttt 30720  
tatatagatc gggatcaatc aggaccgtcc atcagatcgg acaactacgg tttctccgc 30780  
gttgggcccgg gtgccacicc taggttgccc acactattgg gccacatgta cgctccgcgt 30840  
gaaataagtt cacttttaggt cctttaagtt gcctctgaat tgttcccagg cgggccgcac 30900  
tattgggcca ccccataggc catgtgtacg ctccgcacag aataatttcg ctttagctcc 30960  
cttaatttgt cccctcaaac ttctaaaacc agtgcaaac ttttaatttt agttcaccca 31020  
ttgcaacica cgggcatatt tgctagtac atataatatg aaacgaagga tgtagcagac 31080  
tatagaattt aaactgtgct ttcatttttag agcatcacta actgtttatt agatttttat 31140  
ttaaataaat gcagaaatga tgtttttatt atgaaaatta gcaataaagc tcccaaaatt 31200  
tcaaaaaaaaa attaaaagag atttattaat catggttaat ttaattaaaa attaaatcta 31260  
accatatcat attatttcac ggtccgtgat gaggaaatgg cagctgctat cacttatggt 31320  
gggagagaag gggcatigt ttttttata actatctctt ataactccca tgaaactata 31380  
aaataaatat aatcattatc ataacattag tttttttcca ttgcaacgca agggtaattt 31440  
ttcagtlacaa taaaaaaaaa aaagtgggcc attctgaacg gaaatttctg gttttttttc 31500  
ccaagagcgc cgcacacaac tgcgcaagag atcgatcgcg atcacctgc tcgtcgccga 31560  
tctcctacac catccctgcc atctccttcc cctccactgg ctgctgctgc acctgtcagc 31620  
tagggcgggc atggcgcgcc gcgcgcgttc ccgcgctgct ggcgcccttc gctcggaggg 31680  
ctcgatccaa gggcgagggg gccgcgcggg gggcagtggc ggtggcgcgg aggacgcacg 31740  
ccacgtgttc gacgaatgc tccgtcgtgg cataccagat gtcttctcct acaatatctt 31800  
tctcaacggg ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctcgagctac tgcacataat 31860  
ggctgatgat ggaggtgact gccacctga tgtgggtgctg tacagcacgg tcatcaatgg 31920  
cttcttcaag gagggggatc tggacaaaac ttacagtaca tacaatgaaa tgcttgacca 31980  
gaggatttcg ccaaagtgtg tgacctacaa ctctattatt gctgcgctat gcaaggctca 32040  
aactgtggac aaggccatgg aggtacttac caccatgggt aagagtgggtg tcatgcctga 32100  
ttgcatgaca tataatagta ttgtgcatgg gttttgctct tcagggcagc cgaaagaggc 32160  
tattgtatct ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcgaa ccagatgttg ttacttataa 32220  
ctcgctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcacg gaagcaagaa agatttttga 32280  
ttctatgacc aagagggggc taaagcctga aattactacc tatggctacc tgcttcaggg 32340

gtaigctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggcttc ttggatttga tggtagaaa 32400  
cggtatccac cctaatacatt atgttticag cattctagta tgtgcatacg ctaaacaaga 32460  
gaaagtagaa gaggcaatgc ttgtgttcag caaaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 32520  
tgcagtgcg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 32580  
tatgctttat tttaggcaga tgatcgatga aggactaage cctggcaaca ttgtttataa 32640  
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agagctgaag agttaattct 32700  
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc tttaattcaa taattgacag 32760  
tcattgcaaa gaaggaggagg ttatagaatc tgaaaaactc tttagacctga tggtagctat 32820  
tgggttgaag cccgatatca ttacgtacag tactctcacc gatggatatt gcttggcagg 32880  
taagatggat gaagcaacga agttacttgc cagcatggtc tcagttggaa tgaaacctga 32940  
ttgtgttaca tatagtactt tgattaatgg ctactgtaaa attagcagga tgaaagatgc 33000  
gttagttctt tttagggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 33060  
tataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 33120  
cgggattacc aaaagtggaa ggcagcttga acttagcaca tacaacataa tccctcatgg 33180  
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcggatg tticagaacc tatgtttgat 33240  
ggatttgaag cttgaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 33300  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 33360  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 33420  
ggatcaactc ttcttttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 33480  
tttcatgtt agggaaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttc 33540  
catgattgat gagaagcact ttccctcga agcatccact gcttccctgt ttatagatct 33600  
tttgtctggg ggaaaatatc aagaatatca tagatttctc cctgaaaaat acaagtcctt 33660  
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaaattctt 33720  
ttctcttaca gtccgattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtaigt 33780  
atgtcacctc tccgaattat tttagactgtg gttccctggac tgtaacaag ctattatctt 33840  
ctgggttga tgcagaaaa aacacaaaag ttgtctgta tctctactaa cggatcataa 33900  
aggggtttgt aactggagtt tcaaacttaa ggtatctagg cagtaggtat atatgatcc 33960  
tacatcttat gatcttaaga tgatacctt ctcatatcc tctgctgaaa ctttagcttg 34020  
aaccgtcac tacaccacaa tttagacccc ttagcacaga gcacaacgag caatagcttg 34080

cccttacgtt cattatittag catgcactac tactaactac ccaataatca atacatcggt 34140  
 tattaactg tttgtacagt ttaataatgt catititac cagttaacata tgtttcattc 34200  
 aacaccacac cggttttggc acagttgcaa acttgcaata acatittttac tacttctccg 34260  
 ccccataata taacaatctc gtccatact atattgctat attacaggat ggatgaagta 34320  
 ctctctttct tccaaaatat aagaatctag tactagatta gatattatit ggattcacga 34380  
 atttgattag gctgtctaga tttgtagtcg tatgtaatgt ctaattcgggt aataggttat 34440  
 tacctctttg gatggaggga gtagttttta tttcgtactc cctccgtttc atattataag 34500  
 ttgttttgac ttttttctta gtcaaatit attgagtttg attaaattta tagaaaaaaa 34560  
 ttagcaacat ttaagcacca cattagtittc attaaaigta gcatggaata tatittttata 34620  
 atatgtttgt tttttatitaa aatgctacta tatittttcta taaatgtagt caaatitaaa 34680  
 gaagtittgat tatgaaaaaa tcaaaatgac atataatatg aaactgagga ttagcagac 34740  
 tatagcaaat ttaaacatag cttttatitit agagcatcac caaaagatta gcaataatit 34800  
 atccctaaaa ttcaagttit gggtttctta aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc 34860  
 cgtccaagag atagccitaaa tcttatctta actaattaaa ataticataa ttttcctttc 34920  
 gtcacattaa attttcgtcc gttaaactga ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata 34980  
 gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa 35040  
 gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg ccgccgccgc cgctcacggg gaacgatgtc 35100  
 gctgctgtcg cacgcggtat gggaggggcg cgctgccact gcttgggaga taggatatgg 35160  
 agagagaagg aaatgtgagg gttagggtta ggtttttccc cgtccgtatc ttcagcgaca 35220  
 cggaggcgat ccaagctgtc catcagatcg gacggctcag aatgcctcca tcgtcgggcc 35280  
 gcgcatgttt gatgggccga gggaaggccg gagggctgaa caaacgcaat caaaggagga 35340  
 gttggaggag gtaaatitaga atttatitgc gggctgagat agtaaatgga ctgaaaatgg 35400  
 cccatagaga aattgggaat tttatitaaa taaatgttga aaagggtgtt atattatcaa 35460  
 aattaaaaat taagctccga aaattctaaa aaatatitaa agagcattat taatcatggt 35520  
 taattitaaata aaaattaaat ccaaccatat catattatit cacggcgcgcg ggtaggaaaa 35580  
 tgcgcagctg ttgtcgttta cgggtgggaga gaagggacat tgtttatitc cagaactatc 35640  
 ttttataact cccatggaac tttaaaataa atataatcat tattatagca ttagtttttt 35700  
 tctgtctttt ttttcccaa gagcgccgcg cagaagagat cgatcgcat ctccctgccc 35760  
 cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc cacgccctgc tcgtcgccga tctcctacac 35820

catccctgcc atctcctcct tccccctccc tctatcctcc actggtgccg cccacctctc 35880  
 cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg ttcccgccgg cgtgctgct gcacctgtca 35940  
 gctagggcag gcatggcgcg ccgcgcgcgt tcccgcgctg ttggcgccct tcgctcggac 36000  
 ggctcgatcc aagggcgagg aggccgcgcg gggggcagtg gcgccgagga cgcacgccac 36060  
 gtgttcgagg aattgctccg gcgtggcagg ggcgcctcga tctacggcct gaaccgcgcc 36120  
 ctgcgccagc tcgcgcgca cagccccgcg gccgccgtgt cccgctacaa ccgcatggcc 36180  
 cgagccggcg ccggcaaggt aactcccacc gtgcacacct atggcattct catcggttgc 36240  
 tgctgccgcg cgggcccgtt ggacctcggt ttccgcggcct tgggcaatgt cgtcaagaag 36300  
 ggatttagag tggaagccat cacccttact cctctgctca agggcctctg tgccgacaag 36360  
 aggacgagcg acgcaatgga catagtgtc cgcagaatga ccgagctcag ctgcatgcca 36420  
 gatgttttct cctgcaccat tcttctcaag ggctctgttg atgagaacag aagccaagaa 36480  
 gctctcgagc tgctgcacat gatggctgat gatcgaggag gaggtagcgc acctgatgtg 36540  
 gtgtcgtata ccactgtcat caatggcttc ttcaaagagg gggattcaga caaagcttac 36600  
 agtacatacc atgaaatgct tgatcggagg atttcaccag atgttgtgac ttacagctct 36660  
 attattgctg cgttatgcaa gggctcaagct atggacaaag ccatggaggt acttaccacg 36720  
 atggttaaga atgggtgcat gcctaattgc atgacatata atagtattct gcatggatat 36780  
 tgctcttcag agcagccgaa agaggctatt ggatttctca aaaagatgcg cagtgatggg 36840  
 gtcgaaccag atgttgttac ttataactcg ctcatggatt atctttgcaa gaacggaaga 36900  
 tccaccgaag ctagaaagat ttttgattct atgaccaaga ggggcctaga gcctgatatt 36960  
 gctacctatt gtacctgct tcaggggtat gctaccaaag gagcccttgt tgagatgcat 37020  
 gctctcttgg atttgatgg acgaaacggc atccacctg atcatcatgt attcaacatt 37080  
 ctaatatgtg catacgctaa acaagagaaa gtagatgagg caatgcttgt attcagcaaa 37140  
 atgaggcagc atggatgaa tccgaatgta gtgacgtatg gagcagttat aggcatactt 37200  
 tgcaagtcag gcagtgtaga cgaigctatg ctttatittg agcagatgat cgaatgaagga 37260  
 ctaaccctta acattatgt gtataacctc ctaattcata gtctctgtat ctttgacaaa 37320  
 tgggacaagg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc gaggcattct tctgaacact 37380  
 attttcttta attcaataat tcacagtcac tgcaaagaag ggagggttat agaatttgaa 37440  
 aaactcttgg acctgatgg acgtattgg gtgaagccca atgtcattac gtacagtlact 37500  
 ctcatcgatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag caacgaagtt actctccagc 37560

atgtttctcag ttggaatgaa acctgattgt gttacatata atactttgat taatggctac 37620  
tgtagagtta gcaggatgga tgacgcatia gctctttitca aagagatggg gagcagtggg 37680  
gttagtccta atattattac gtataacata attctgcaag gtttattitca taccagaaga 37740  
actgctgctg caaaagaact ctatgtcggg attaccaaaa gtggaacgca gcttgaactt 37800  
agcacataca acataatcct tcatgggcct tgcaaaaaca atctcactga cgaggcacct 37860  
cgaatgtttc agaacctatg tttgacggat ttacagctgg agactaggac ttttaacatt 37920  
atgattggig cattgcctaa agttggcaga aatgatgaag ccaaggattt gtttgcagct 37980  
ctctcggcia acggttttagt gccagatgtt aggacctaca gtttaatggc agaaaatcct 38040  
atagagcagg ggttgcctaga agaattggat gatctatttc tttcaatgga ggagaatggc 38100  
tgtactgcca actcccgcat gctaaatcc attgttagga aactgttaca gaggggtgat 38160  
ataaccaggg ctggcacctt cctttccatg attgatgaga agcacttttc cctcgaagca 38220  
tccactgctt ccttgttata gatcttttgt ctgggggaaa atatcaagaa tatcatagat 38280  
ttctccctga aaaataacaag tccittatag aatcttttag ctgctgaagc attttgcagc 38340  
tttgaaatic tgtgttggaa ttcttttctc ctacagtcgg attagaggag ggatcttctc 38400  
tgtatgtgta aatagcgagg tatgtatgtc acctctccga attattttga ctgtgggttc 38460  
tggactgtaa acaagctatt atcttctggg gttgatgcca gaaaaaacac aaaagtittgt 38520  
cgltatctct actaacggat cataaagggg tttgtaactg gagtttcaa ctttaaggtat 38580  
ctaggcagta gttttgacat tagatccaac atttgttagt attcatttgt gtgtatcaat 38640  
ctatagggtt tcattaaatt tcatttgtgt actgtttagg tgttgaatat attgttttac 38700  
ttgtttttta actgaacaaa agatagctga agctttgttc tttaccaa at gcagtagtga 38760  
tcatcacaat atattttttt acggaacagg agattgtata aaatggtttc catcggcggc 38820  
caacggcgac cgctctgctc tgaccaccca cccaatccat ccatccactc gccgccgccc 38880  
ctgateccaag cctccgcccgc gcgacagcga cgcaccgccg tcgagaggag gaggcgtgag 38940  
ccccatgggg accctccctc ggccgcgtaa tgccgctgca cggtaaccac gcgcctctcg 39000  
aggcctccgc cgctagctga tctctttctc tccgttttgg gtttgggttt gtgatttggg 39060  
tgttttttcc gcagcgggtg tgggtgggtgt ggttgcggcg ggagggggcg gtggccgcgg 39120  
ccgtggcgtg gagtgccagc tgcacgggt gcaccgccgc cggggctccgc aggttgtggt 39180  
ggcgacggcg agctgaggag gcggaggag actggtgagg gacacaggca ggcaggctct 39240  
caaggctaag ctgtttacag gtactgagac tagttactaa ttactttgat aatcagtata 39300

aataagcttg tgtagtgtaa tggcattgtg catttctgca ctigttaaatt ttacagaaga 39360  
tggtcattca atttgaacct gcatctaata ttttagtggt ttgagtttat tctcccagtc 39420  
acagagttga agaggcaagt aacctgtlaag agaggactga acattaacac ctcttggttcg 39480  
attaaaaatg accaaagagc atcaaacaatg taticgaggc tgttacttta atatggccca 39540  
ttaatttggt tagttggcta tgtacatcct agttgggtgca gtgttgtgga aaacggaata 39600  
cgggtgtcgg atggacgagg tgccgtcaag cgattaatcg taatacggat gattaaacgg 39660  
aattataatg atttttggcg ttgcactaa gatgtacata attgatgta atggcaatgg 39720  
tggagacaaa atgcatcatc ttaataaaaa atatttgtat aaatctctaa ctatattatg 39780  
aaaatgccat ttattagttc aatagataatc aacactgatg gttagtagcg caatagcatt 39840  
gggcttgta gtcaaaatag tgcagctggg ctgcaagttg caagtttatg ttagtttcat 39900  
aaacagacat ctgattgtc gataaataac cgactaatcg tgccatacaa ctgtataatt 39960  
actctgaaat agtaatgttg ctccgacttg atgatacggc acggctctggc taccgtttcc 40020  
gttttgacag acgattaaac ggctgtgccg gtgcacttcc acaacactga gttggtgtaa 40080  
atgccagtta ccatttctat gatctaaaaa aatcaactct tttagtatat ttcaaaaac 40140  
gaaaattcag tacacatgca tgaatcttaa tcttcataatc tagctcgtaa caaaatcaac 40200  
aaaggcacccg tgtcagctgg tgcacattag ctagttcgta cttagcatta tccactagca 40260  
ccttattttc atgcataatc tgcataattg ctgtcccacg ttgagtggga atttttttcc 40320  
atgttttata atttatatat gttctagact tctacttcat gttcctgagc ctctagtatg 40380  
gctggtagca gactagggtc tgaatgctgt ccttttttgc agactgaaga gaggagaaat 40440  
acaagactgt ccgttgttag tcagatttgt aaaaatagac actgatgtag ttatattttg 40500  
cccctatttt atatttaaca atacaaatat ataacgtatc ctaagaattt atcgtaattt 40560  
aggagaagtt gctcgittca ttaaattaaa ttgggaagta aaaatgtgtg ctcgagtatg 40620  
tcaatgcaat cctgtgttct tgtttgaaga tatggtgtag ggcaggccag gattgaacac 40680  
tgaatggtaa gactgcttct gctttcagac gttatgtcta aatttttagc tagttgcaat 40740  
tagtgcgtc acgccgatta agcagtagaa caaagtaatt ttgtcgtgac aaatgagtta 40800  
tatttctttg aaaatcgaag cgaaaacgaa ccaaagata gaagaaaagg gaaacttggc 40860  
aattactcca caaagagaac aaatttatgt gtaagatttg atatgagatg ctcgattact 40920  
tggcttaagt taacaatatc aaatttgggg aagcaccaaa agaattatgt tgacttaagt 40980  
taaagatatc aaatttgggg aagcaccaaa ggaattatgt tgatggagtt gtgggtgcat 41040

aacgttat ttt gctttgttca aatcctagtg actatgaata tgaatat taa tgcgtaaggt 41100  
aaggaat tta ttgttaat ttt taggttcttt acgattgtgt ccggggacgc caticggtaa 41160  
ctgtaataat gttttgtatt ggattcactt gtgttacatg cacgcactaa acatgtgcct 41220  
taccttttca tttgtttgtg cgttctgcgt ttgaatttga cgagattcca tggtcagctc 41280  
aacatgtcag ttactgcgtg tcaagcagtt actgcgtgtc aagcgatcct atattggtatg 41340  
cgacaagcg attgtatagc gatatgacag tataacgtgt gatattgatt tttttatata 41400  
aaaaaatacg atgttacttt ccttcataaa ggaacaaaga cttttttttt aaaaaaaga 41460  
aggggtatta ctaaaaacaa aaatgtcaaa aacaaaatat cagtcacat ggcaagtgtg 41520  
ctcggcaatt ttttgtctgt actttaaaca aaaatat ttc tataatggat tttttacaag 41580  
ggtgtcacia atatttttaa ttagccaaac atctgcattt tattaaaaac tgtataaatt 41640  
ataatttata ctctaaaagg ttgtgtacat ctctcttgga gaaaatgtat aagtgtcgaa 41700  
caaacattaa tccacgttat ataagtcatt ctgtatttta accatagaaa gtaagaaacc 41760  
tactagcgtg ttaagctaag ctctctttca ttctctttct tcttcttggt tttgttcaa 41820  
tcactgtica agtgaagggt tcttaactac cattactcct actcaccaa ttttttctc 41880  
agatctttcg taggtatata ttgatcctac atcttatgat cttagaatga tctcttctc 41940  
attatccct gctgaaactt tagcttgaac cgtcatctac accacaattt gagccccctta 42000  
gcacagagca caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tatttagcat gcactactac 42060  
taactacca ataataata catcggttat taaactgttt gtacagt tta ataagtcat 42120  
tttatcacgt taacatatgt ttcat tcaac accacaccgg ttttggcaca gttgcaaact 42180  
tgcaataaca tttttactac ttctccacce cataatata caatctcggt ccatactaga 42240  
ttgctatatt acgggacgga tgaagtactt ctttcttcc aaaatataag aatatagtac 42300  
tagattagat attatttggga ttacgaatt tgattaggct atctagattt gtagtcgtac 42360  
gtaatgtcta attcggtaat aggttattac ctctttggat ggaggagta gtttttattt 42420  
cgtactccct ccgtttcata ttataagttg ttttgacttt tttcttagtc aaattttatt 42480  
gagtttgact aaatttatag aaaaaatta gcaacattta agcaccacat tagtttcatt 42540  
aaatgtagca tggaaatat ttttataata tgtttgtttt tttattaaaa tgcactata 42600  
tttttctata aatgtagcca aatttaaaga agtttgatta cgaaaaaaaa tcaaaatgac 42660  
atataataig aaactgagga tgtagcagac tatagcaa at ttaaactatg cttttatttt 42720  
agagcatcac caaaagatta gcaataattt atccctaaaa ttcaagtttt gggtttctta 42780



aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta 42840  
actaattaaa atattcataa ttttcctttc gtcacattaa attttcgtcc gtaaatecca 42900  
ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag 42960  
cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg 43020  
ccgccgccgc cgccgccgct cacggggaac gatgtcgtcg ctgtcgacg cggtatggga 43080  
gggcgccgcc gccgctgctt gggagatagg atatggagag agaaggaaat gtgagggagg 43140  
gttaggtttt tccccatccg tatcttcagc gacacggagg cgatccaagc tgtccatcag 43200  
atcggaacgc tcagaacgcc tccatcgtca ggccgcgcgt gcttgatggg ccgagggaag 43260  
gccggagggt cgaacaaacg cagtcagagg aggagttaga ggaggtaaag tagaatttat 43320  
ttgcgggctg agatagtaaa tggactgaaa atggcccata gagaaattgg gaattttatt 43380  
taataaaatg ttgaaaaggt gtttatatta tcaaaattag aaattaagct ccgaaaattt 43440  
taaaaaatat tcaaagagca ttattaatca tgattaatat aataaaaatt aaatccaacc 43500  
atatcatatt atttcacggc gcacggtagg aaaatgcgca gctgttgtcg ctgacggtgg 43560  
gagagaaggg acattgttta tttccagaac tatcttttat aactcccatg gaactttaaa 43620  
ataaatataa tcattattat agcatlagtt tttttctgtc ttttttttcc ccaagagcgc 43680  
cgcgcagaag agatcgatcg cgatctccct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 43740  
tctccacgcc ctgtctgtcg ccgatctcct acaccatccc tgccatctcc tecttccctt 43800  
ccccctatc ctccaciggt gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgttgcggcg 43860  
ttggtttccg ccggcgctgc tgcctgcacct gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 43920  
cgcttcccgc gctgttggcg cccctcgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 43980  
cgccggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 44040  
caggggcgcc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcg gtgacagccc 44100  
cgccggccgc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccgagcc ggcgccgacg aggttaactcc 44160  
cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgtctgtcg cgcgcgggcc gcttggacct 44220  
cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgctt 44280  
cactctctcg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 44340  
gtctccgaga atgaccgagc tcggtgcat accaaatgtc ttctcttaca atattcttct 44400  
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 44460  
tgaigatcga ggaggaggta gcccacctga tgtgggtgtc tataccactg tcatcaatgg 44520

cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgctggaccg 44580  
ggggatttta cctgatgttg tgacctacaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 44640  
agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatgggt aagaatggig tcatgcctga 44700  
ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 44760  
tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcga ccagatgttg ttacttatag 44820  
cttgctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 44880  
ttctatgacc aagagggggc taaagcctga aattactacc tatgggtacc tgcttcaggg 44940  
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggcttc ttggatttga tgggtacgaaa 45000  
cgggtatccac cctgatcatt atgttttcag cattctaata tgtgcatacg cttaaacaagg 45060  
gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 45120  
tgcagtgcg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 45180  
tatgctttat tttaggcaga tgategatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 45240  
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 45300  
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactatitc tttaattcaa taattgacag 45360  
tcattgcaaa gaagggaggg ttatagaatc tgaaaaactc tttagagctga tgggtacgtat 45420  
tgggtgtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttate aatggatatt gcttggcagg 45480  
taagatggat gaagcaatga agttacttct tggcatggct tcagttgggt tgaaacctaa 45540  
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 45600  
gttagttctt tttaaggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 45660  
cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 45720  
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 45780  
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 45840  
ggatttgaag cttagaggct ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc tttaaagttgg 45900  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgctttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 45960  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 46020  
ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 46080  
tttcattgtt agggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttct 46140  
catgattgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 46200  
tttgtctggg ggaaaataat aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 46260

tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 46320  
ttctcctaca gtccctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 46380  
atgccacctc tccgaattat ttttactgtg gtccctagac tgtaaacaag caattaigtt 46440  
atgctgttga tgccagaaaa aacataaaag tttgtcgtta tctctactaa cggatcataa 46500  
agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 46560  
ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggigtgtgaat 46620  
agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agctttgttc tttaccaaatt 46680  
gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggaacaaga ttggattgta tagaatggtt 46740  
tctgatctga ttaacttate tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaatate 46800  
tgatggaatg atgtttctat ttacctgtgt gaggcagcaa ggagtgagat ggataacacc 46860  
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gtttttagagt tggacacgat tattaagaaa 46920  
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 46980  
agtgaatggg ggagggttgt gattggttgg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 47040  
ttttggggag tacattatta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 47100  
atgtttcaca acctgtgctc gatgggtttt gagcttaate ctgggacatt cagtatcatg 47160  
atctgtctca ttcttaaaca tggaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 47220  
tcttttgggt acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggg 47280  
ggtaggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaatc tgacatgtgg 47340  
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatecct tctccaaacc 47400  
aattglatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccatg gagctctcaa ccataatcat 47460  
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 47520  
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttccctctct cattgtgctg ttaigatttt 47580  
taattccgta acaacgcaaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 47640  
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggaagctcc tttgaccatg 47700  
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgt gtcttggtat 47760  
ggaaggatcc acagataaaa ttcaggttct actgcctctc tgcttgtaat ttcatgaag 47820  
ctgcagtga taccitgttg accacttgat ctgttgcttt gaaggagaat atagtagtgg 47880  
ccaaggttgg tgacggigtg ggtggcatgt gatccccag atcttcagt acccagagag 47940  
gaggggacgg cgcgtggiga gctacaaggc atactcagt gagggcaaga tcaaggcctc 48000

ccgtccgtag gggactccgc tgcatacaagg ccaactgctc cgaactgatac aatttctggt 48060  
acggatacact tctccttccc tttttttttt caccctaagc actctcttga ttcttctgctg 48120  
ctacctccct taatttcttt caatatattg tggcacttga tcatggcgga gaccacactt 48180  
ccagtgtgaa tggattttgt caaagaacta aatttattcc attagcttat ttccgatta 48240  
catggaagac attcttttct ggaataaata cagaactaaa tctgttttcc tgaataaaag 48300  
ttgttagtgt gtggcatggt gcatttccgc gcttctaaat ttataaaac ctgttcattc 48360  
aatttgaacc tgcataccaat ccaatatatt aggtgcagac aggtgcttgc ggtcaggtta 48420  
aagaagtgg caaaaatgct tctgaagaaa ggttaattgt tgtttcatct caggaggtaa 48480  
tatgcagatg attattccaa ttggcattgc ctgccaattt ttatcacgag tctttacaat 48540  
tttatacct cctacataatt ctttccagat tccagatgat ccagtgtctc caacaattga 48600  
ggcgcttatt ttgctccata gtaaagtaag tacacttgc t gagaaccacc agttgacaac 48660  
acggcttgtt gtaccatcaa acaaagtgg ttgtattctt ggggaagggtg gaaaggtaat 48720  
tactgaaaatg agaagacgga ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc 48780  
taagtacctg tcttttgatg aggagcttgt gcaggtaatt tatttggcca tacctacacc 48840  
agagatccat atattacttt tataactgca gtttttactt gttaacattt cattgtgctt 48900  
ttacatttgt tccaagcttt caggltgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga 48960  
cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tgggaagtct tccaataatc 49020  
cgacaccttt tgcctctgtt gatggctctc ctgttgatat ctgtgcctaac aagggaattca 49080  
tgctataatgg acgatctgct aatagtcctc cataatggagg gcctgctaata gatccaccat 49140  
atggaagacc tgccatgat ccaccataatg gaagaccaat atccacaata tgggaagacct 49200  
gccaatgate caccatatag aagacctgtc aatgatacat catattgagg gtgaacaat 49260  
gatgggctc gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc 49320  
ccccgattc ccagggtccc cactatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg 49380  
caacgtgagg cgatgttct cegtgtttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat 49440  
aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag 49500  
catatcagcc ttatcttgggt tgatcggtat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa 49560  
ctgctgactg ctatataatgt gctgggtgctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag 49620  
aacaaccacg gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagtaagta cgctatactg 49680  
cctatctaga tctagatcga gattacatag tgggaattatc tgtttataac aaaattacaa 49740

ggatcaatt gataatttaa ggttataacc gtacaaactt cagtgatttg ctggtttcac 49800  
attggttaga ttigtittcaa ctaatttggg acttctgtag ccttgtaatt tacgaatcta 49860  
gtattaatat ttictttaagt attagcctgt tccttgatai taigctgttg agaaagtatg 49920  
caatagataa caaaaacaag taggtgtgtt gaggatgctc aagagtaata caggcacttc 49980  
aataattctg atattatcag gacatcatca ataattctgc gcctacaaat cttcaaagaa 50040  
aattttaata taatgcgtat gatttttttaa atacgaatat tgattgctat ttaaagatat 50100  
ttatattata tggtaattat tatttgaagg ttataataa aggcctccgt ttttagtttc 50160  
acgctgggcc ttcagaatct caggaccggc cctgctcatg atccctacac cgtgtatcct 50220  
gtagagtact tctctaaaag agagtaccct agtggaaagta gcaaagtigc accatctgct 50280  
tcatacgaaa gatatgcagc aactactcgc ttgcctaata gagaactgcc ctcatctatt 50340  
agtccctggg cegattatat gtccctgccgt tcttatcttg accaagtacc tactgatagg 50400  
tactctaata gggttacact acaattagge ctcttgagag ccgggaatag taatgtgcaa 50460  
caattaggaa tcaccagagc tggaaattcc aatgcttatg attatactga ggtacatttc 50520  
caatgcgtta gcttgcctct tctttgcaa tggccctcgc ctgatatgtt tccattagaa 50580  
acatgaaacc atataattga ctgttgcaat atgtctatct tcttccatga tggttcagac 50640  
gtctgaaaaa aggacaaaaa tattctagaa tatgtcatgg tgatccaaat atatccttct 50700  
gtcttgtgcc cactctaata tctatcggtg gtaacactat tcaattgtta ccatgttgtt 50760  
gcaaacccta gattcagtta ttcagcgtt ctctgctgct gttgcttacc agttttctta 50820  
gttgggtgtt gatcttttct catTTTTTat ttccctgttt cctggttcac ctgctgcctc 50880  
tctgatgcat ctgaatgtat atttttgttc tcttcagtc ttaatagatt taaatttcat 50940  
tcttttcagg ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc 51000  
actgggtatg gcttacgcag actgaatttt tacaggacac aaacatgaat tttgtcctca 51060  
taatcatgta gtgatgatct ctttgcaggt atccagggtg ctctgtcgaa ttgtggattc 51120  
caaatagtta actggagtct gtcattgggt ttgggtgggt caatctagct gagatccgtc 51180  
tggatatagcg taagagaaac atcatgcact atccccagtc ataaccatgc cccaatggcc 51240  
accaatagtt ttctctgtga aaatctcccc ttgatcccag atctctgggt cgagagtga 51300  
gttgcacgaa gcccatcctg gttcttccga gtccattgtg gagatccagg gcattccgga 51360  
tcaagtgaag gccgcacaga gccttctgca aggccttcac ggcgcaagca gcaacagcag 51420  
gcaggcgccc cagtcctctc gcatggccca ttatTTTTtag taagctggag gacattcgca 51480

acaggggggt cagtgggtcac tgcaaagctg agtttgttct tcagttcaac tgcagaaaat 51540  
tgcagatcgg ttgccgtagt tgctagaacg gtacatagtt gccacctaac tgtagcgagt 51600  
ggcataactt atttgttgtt actgcccact gttgtctctc ctltgtgttca tggattcaga 51660  
ctltgtgattg tagtatttct ggatcagact ggagtaaaag aaaaaaaaaa aggaagacat 51720  
gggtttaaca gtaagctcaa aacgttgaca gtagtaaaat aaaaggggtt tgttcacttt 51780  
atttccaata tcaaccttac caacatttgg cgttgaatca tttataccac atcgcttgtg 51840  
cagctgaatt tggggctgtt taaaagatgg tctcttggat tgctaattgc ctcgcggcaa 51900  
gcgtgggtacc ttgtacaata taaatataat tataactatt taatttcata attaaacatg 51960  
ttgttacaaa tctctactat tataaaaatt gaagatgttt ttgtccggtt ttttgggtacg 52020  
tcatctgtgt atgaatccgt ttttaagttc gtttgccttt ggaaatacat atctgtattt 52080  
gattcagttt ataagatcgt tcacttttgg taatacagaa ggaatcataat aagaattctg 52140  
tttaaaaaca ctcgtatagt aacttgagac gatcagacgc ctaactacag ctcattgattt 52200  
tctaaatata tataatatata tataatatata tactagaaaa aatataatgtg tgttaaaagc 52260  
tattttaate ttattattgt tataatatatt agttaacaag aaatctattg tgggaacttg 52320  
tttggatata tattttttta aaaaaaatca tgagctgcaa ttaggaatcc aatcgtctca 52380  
agtttagcagg agggcgagtt tttttaaaga gatttcttat acgatttctt ctatatttct 52440  
aaaagcaaac gaacttaaaa accgactcaa acatggatct gtatttccaa aaacgaataa 52500  
acttaaaaac cgactcatgc acagatgatt aatttttata atagtagaga taaacgaact 52560  
cccacagtga attttatttt aactgaacca tataacaata ataagattaa aatagacttc 52620  
accgttgca atgcacgggc attttttcta gttaaagaag aaataaaaaa acacaaaaat 52680  
ttataaaatg taaaaaagaa aaatattata attttgttag aattattatt ataatataga 52740  
aaaatagttg ccaaaatttc tcaacgaatg tcgaataaac tcagcaatgt catatattta 52800  
aatatgatgg taatatattgt tcgcaaaact ttaatcttca atccttcaac aacatagata 52860  
tacaacgtcg taatcgccaa caagcccag tgaccataca ggatagccga gcggtggatc 52920  
tgtactgttc ttgggtgaaa taaatctagt acattgtata tcttatctta atatctacta 52980  
ttataaaaaat tgaagatatt tcttcaaaga ttccatacgt tctctactc cgttacaata 53040  
tcggttctac tccgttacaa tateggtttt gtacaccccg cgcacgcgtt gtgtgttctc 53100  
ccgttccaat acatgaagct agagtcctgc tcttccctgg tctggcaggc cctttttcca 53160  
ccatccccac cagggccagc gggttacatt gaccgatcac ggcccacatt agtggatgca 53220

gccagccacg ctcttcacaa atcatgtgat gaacattagc tgagttaaaa tttatccttt 53280  
gatgatigtt agaaatgttt tttctccac atctctctt tcaattttgg aaaaatagat 53340  
ttcttgattt ttgtgctcgt acatcactaa taaatcagtt gttacccttc cacacattgt 53400  
caatttacca tgtctatttc agctcttacc ttgtatagtc ttgactcttg agtcctcgt 53460  
attgactaag ttgtacatg cctcctacaa atcaatagac tgccataaca atattttcta 53520  
cgacatgac cataatagtc catgcaatgc aagtacacac acactactgc acgaaaaaac 53580  
tatgcacat aacttcaaaa ctaacatgtt agaatgacgt taatttttca ttacaattat 53640  
attcatcgac cgttaattta ctaggcatcc tgtttaaaaa aaatattcac cgaccatacc 53700  
cacatgttcc gtagttcatt aggtgatgga tcggtagtta cagcagctgg atttttatat 53760  
tttggtcatt ttgaaaaatt tatttcgcaa atagactcct gaaaaaactt atcccagaaa 53820  
tagtcccttt tggagcgta gagtggctgg cgccgtggtc caacgggaca gcgccaacct 53880  
ctctggcgcc gcccccgcc tctattcttg tttctctata tagagttgca aactttttat 53940  
ttttgtttta tttttttgga tgttttttca ctcttagaat cagatacaa ccaactacaa 54000  
aaaaaattaa actcgaacgg aatatacac ttagctagaa gtctgaaaat atagcatacc 54060  
acttatctac ttigcacctt caccaaaatt agaccataac ttcttttagta aaatcctttg 54120  
atcagcatat taaacataat gcactctatc actaggtgaa attacttaat ctaattcaaa 54180  
atataactac atgtagcctt gaaaaattct acatgccaca tatttcgtcc gtttgagttt 54240  
attatitttta tggttcgttc atgtgagttc ccaagtgta aaaaaaata aaataaaaat 54300  
aaaaaagttg cacatcctct cctctgcatt agagaggaga ggagaggaaa aattctacag 54360  
gtcacatatt tcgtccattt gagttcattt tttctatggt tggttcttgt gtgttcctaa 54420  
gcgtgaaaaa aatatcaaaa aaataaataat aaataaaaaa attcgggggg ggggggcgcc 54480  
agccactctt aggggigaaa acgatcggat aatatccgat ccaatctgct ccgaatccat 54540  
ccgaaataag gatatgglat gggtttttag aaatctggcg gatatggatg cggatgagga 54600  
tatggtatct ccgaaatcgc acggattatc cgacattttt gtcggattat ccgataggcc 54660  
ctttaccgga taatccgaaa ttatgaacac atgtaaccac tctatctatt gcataaaca 54720  
taagttggtc catccaalga cctaaticat caattaccct agatttctta ctatgtgggt 54780  
ttcaccaatt catgtcacac ttgcgtagct gtatttttat aaaatggaca tcatgtattt 54840  
atgttgttta gcacttaagc acataattat tacaatgggt cgttttattga cattgtgtta 54900  
tttttacttg cattgciaac tcaatgttgt attgattgca tacacacgta acatctgata 54960

aaattttaatc cgtttctgaa ccgattccgc accatttccg acatctgcat ccgtacacta 55020  
tccacacca ctccgaatcc gcttaaaaaat atgggttagg atatggtag accactatcc 55080  
gtccgaatcc gctttatitt cacccttagc cactctggcg cgcttccctt gccacctcag 55140  
catcgtccca ccacgtcggc agaaggacgg cggctccagc cactctggcg ccacaaaaaa 55200  
ggaccatttc tagcataagt ttttttaggg gtctatttac gaaataagtt tttaaaagga 55260  
ccaaaatgtg aaaaatccag gttacagcag actgtgataa gcaatagcta tatigcctat 55320  
atatacacgt atatgcattg ctaatccttc aattttgtcc aattctttta aattgtcttc 55380  
acctgttgca acgcatgatt tttttcttag tcttaacctt aactaatctt aataactaac 55440  
taaaagattc gtatctttcc gatcgtcacc ttgtccatac gctaattttt cgtccgtccc 55500  
ccctccctt caaaaaaaaa gggaaaaatc cattttacac cctcgaactc ttaigcttgt 55560  
ctaaaataca cccccaact ataaaaccgg gtataatata cctcagagct atcaataccg 55620  
gacagticaa ggggtgtatta taccigtgtt tgtagttagg ggggtgtatt tagataagca 55680  
taagagtcca agggcgtaaa tggactttt cccaaaaaaa atcccagtcg ttactttcca 55740  
tcctgagaat cggagacagg gaaaactgaa gcatacacgc aaatagaatc aaagataggg 55800  
aaaactaagc atatacacac aaatataatc aaaaattccc atgcagctag atcgggtgcc 55860  
accgttgttg ccaaaccacc acatigcaat gtaaactctaa gactaaagcc taaatcctat 55920  
gctaagtcat caaattagac tcggttctac caatttggtg atatatcaaa ttagacttga 55980  
tttttactga tttgaggttc tcgagggtgc acactatgaa acggaagttt tcccgttgc 56040  
aacgcacggg cactatgcaa tatcttaact aattaaaaga ttcatatttt tctttcgtc 56100  
acaccgatct ttcgtccgtc tgtaacatca cgtgcacctc ctctccaaat cccacatcat 56160  
cataatccga cccaaaaaca aaatctcaat ctcaatccaa tcagaatcat cacaaaatca 56220  
tccaaaatat caagagatga ttataggaga tggaggggtg agcaggagca acatcatcat 56280  
cgcataaaaa ccccaaaatc aatcacaaca acgacatcat tatcacataa gaaaaacaat 56340  
acaaacaaca tacacaatca acaacactgg cggatccagc cgaggggaca acggcgtggc 56400  
agcgggcaga tctctcgggt cagatccgcc cacgggtgcc actgacgtcg ccgccccac 56460  
cggatccaag ggagaagctt cggacagagg gagagggggg tagaggaccg ctaaateccg 56520  
ccaccggaaa tgcgccgcc accacctccg tcggatttgc ccgagggagc gccgatgccg 56580  
ccaccgccat cgcgggagaa gcttgggcac ggaggggtgag gaggaggggg ggtagagaat 56640  
cgccggatcc atccgttgga aaagcctccg ccggatccgc ctgccgaaa caccgtgtc 56700



gccgcctccg ccggattcgg tagcgggagc cgccgatgcc accaccgccg ccggatccgg 56760  
tcggtgggag ccactgacac catcgccgcc gccctcctctg ctaccgacaa gggagagacg 56820  
agaggggcgg gggcgagggc gggggacgag aggggttagag ggagggaccg agtgggagag 56880  
agagggacga gtgagaggag ggggacgagt gaataaggat gcgtgacctt atccactcgc 56940  
gcggtcgcac cccggctctt tctctcgtc agctgttgcg cttgttgaga ggatgcgaga 57000  
tttttttttg agtaaaatgc acgggcggtc cttaaacttg tagcggcttg tcatctaggt 57060  
tcccaaactc tcaaaatgca tatccaggtc ctagaatttg tcaaagtgtat tcatctagat 57120  
cccaaaccga cacatcctct cttggatcct acatggcgct aatgtgacct gtcacatgga 57180  
cgtgacacgt cttttttttt cttcttttct ttttcttttc cgttttcttc tcattcttct 57240  
ttttttccat cttctgctcg ggtcacatag aaaggaaaag aaaggaaaat acaagagaag 57300  
aaaaaaagaa aaaagaaaat ttttaaatgg gtctcattcg tcagtcaaaa ttatgccaca 57360  
tcatgtccct gcgacatgcc acatcagcac cacgtagcat cctgaagggg ttgtggcgat 57420  
ttgggaccta aatgacacac tatgacaagt tctaggacct ggatatgtat tttagagatt 57480  
taaggattta tatgacacac tactataagt ttaaggaccg cccatgccct ttactttttt 57540  
tttttacacg gagagaatgc gaatttgttg gttagtgtcg gctgagggtt tctcgcacgg 57600  
agaaatttgc ggtgggagaa ttttttttcg aggttctttc tatgggaga agacgggatt 57660  
atagggatta ttactggtgt ggtggccctt gtttcttctc tttttcgagc ttctttccgt 57720  
taaattcact tttctctctt caaggagcgt aggacatgac tgaatgcagc tgctgtlaaat 57780  
tagaaataaa aaagaaacat attctgtttt tcatTTTTTT caataggtaa atataaagat 57840  
ttttaagtaa tattttaaaa tatatagtgc tgatcaacga cattgttaag tgagattttg 57900  
ctgttactat cacttttttt tccattgggc tcacgtacgg cattaaaagt ttttagttttg 57960  
gttctctcct tttagatttg ggcatatacc aatatgaga taggtatact aaagttcatt 58020  
tggattttat tcgattcaac ttttttgggt ttgttccagt tcttttttac atgtttctca 58080  
tctgaaatta ggaaattagg tttggtaaag tcttgaatag ataacgctgt tgacgtttga 58140  
acatatattt atctatttat ttattttaaaa atatatgaat aatttttatt ttgttatgac 58200  
ttttgtcggg gacatgggac cgggagatc atgactagag gcttgggcag gagcgatcac 58260  
ccacgtggcc tgatgtlaaca tcctgaaaat tcccaacaat aaaaatcact aaaattttga 58320  
actttttaaa acttttgcac catgctgggt gttatgattg ctattgcttg ccaaaccgta 58380  
aatgatcaca aagaaagtaa agtaaggatc taaaatttaa gtaatagata aatttacgag 58440

aataataat ttaattgcta accctacaaa taattacgca caagaaaaca aagccagaca 58500  
aacggaaggt taattactaa tttaaattat ggattaatta tttaaatactt gaaccatgtg 58560  
ttgcgtgcc a tggcatctaa atacacatga aataatggtc atataattaa attaagcttt 58620  
ataaaattat gtgaggtttt aattaagcaa ttagcttaat gtigtaccga gtccttaatat 58680  
actatittata gaataaataa attcaacct a tccgtgtaaa atatatgtct ataagttcat 58740  
tcaatgtact attgtaataa taatggccac attaggatat ttttaattaat tttaggaacc 58800  
tcaaagcctc caaaattatc taggttaatt ttgaaattat acctcattta agtaatgcaa 58860  
tagaaaaata tacataaaaa taaaatatgg gtaatat tag aaattgagta aattttcatc 58920  
taaatataaa catatatgtg gtaaacctcc tttatgtaaa aattaagatt tatagaatga 58980  
aatttgtaca agggataaac taaaatcggg ttaaataga aatggcactg ttcatgtcac 59040  
tctagggtgt cgacgtggtc cctggcccta ttttccccct cagccgcgcg cgccgtggctg 59100  
cctcgcgcc cgccgccacgc caccgcgtc gcgtcgcgc tgcgcgcgcg tcgcgtcgg 59160  
cgttcgcgc cgctcgtcc gtcgtcgcgc cgctcgcgc ccgcgcgcgc gtcgtcatcg 59220  
cgtcgcgcgc gccatcacgc cgctggccg cccctgacct cgccgcgcgc cgccgcgtcc 59280  
cgtagccgcg tgcgcgttc atcgccgtg ccgcgcgcgc cgccgtcac gcgcgcgcgt 59340  
cgtcgcgcgc gcatagcccc gcgcgcgcgc gccatcgtgt cgccgcgcgc tcgcgtcgt 59400  
ctcgagcccc gcatccctct cgagccccgc agtcgcgtc ttgtcgccgt tgcgtcgcgc 59460  
tcgtcgtcgc cgatcgtgt gcgtcgcgc tgcgcgccgt cgctcgcct tgcgccccgt 59520  
gccgcgcgt cgcggtgtc gctgtcacct tcgcgtcccg cctcgtgccg cgccgccacc 59580  
ctgcgccccc gtcacgtccc gtcgtcgcgc cgccgcgcgc ccgtgccgc gccgtcacgc 59640  
tcgtgtcgc gtcggcctcg cgcttgagc cgccgcgcgc cgctccctc gcgcctcgc 59700  
ccgcgcgcac ggccgtcccc tcgcgtcgc cctgcgccac tgcgcgcgc cccgtcccat 59760  
cgccgcgcgc cccgtgccgc cgccgcgcgc gcgtcgcgc gccgtgtcac cgctcgcgc 59820  
cctcgagcca cagcgtcgc gccgtcgcgt cgccattagg gccggccacc cctttccccg 59880  
cgccctataa aaccccccg ccacccccct ttacccccac accatcccca cccattcccc 59940  
tcttctctc ctcttcccc tcttcgtccc ctccaccgc cgccgcgcgc gccctcgtgc 60000  
cgccgcgcgc tgcgcgtcg tcgcgcgcgc ctgcgcgcgc cgccaccgc ccttcgtgc 60060  
gccgcgcgt gcgcgcacgt cgtgccgcgc tcgcgtcgc cgctcgtgt cgccgtcgc 60120  
cgtcgcgcgc gtcggtaagc cgccgtccct tccctcgttc cgacgcgcgc gccgcccggg 60180

tgggaaggag ccgagagaga gagggaggaa ggagccggga gtaggaagaa agaaaagaaa 60240  
agagagagag agaaaagaaa agagaagaaa agagaaaaga gagaaaagaa aagaaaagag 60300  
attagagaag ggaggggaaga gtggggcccca cctgtcattt gccccatcca attcccctta 60360  
gaaaaataat tctgtagaaa agaaaatcaa gatcttgacc ccacctgtca gtcactatag 60420  
cgtgtggata aggttgtatt aaaaataaat gaattaggaa cagtactatt tcgcaactat 60480  
tagaattaat tcaaatttga atctttacac tagcataact aattcatttt agctccgatt 60540  
tgagtggaaac ttgaacctaa attcatctaa attcataagc tttccaatgg tatataattt 60600  
actattaaat aaaatatatt tataattatt aagtaattaa tatcatatga ttaggttatg 60660  
gtcaacttaa aaataigcta ataaataaaa ttagtattgt ggatgtaata atatttgtct 60720  
ctaacatgtc ttgccactgt aacaaccaca caaactaata ttaagtgatg tctgaaatga 60780  
atgaatgaat aggaaaatac tagtacttgt ttaatatctg atagccatat aattaaacc 60840  
atggcittata ggttatttta atcaaatgta gccttgtgat tatgcaacta aaatataaac 60900  
acatatagat gaatctttag cttagattagg aggaataata acagagctag tgtgactagt 60960  
tatgatatag ctgtgtgtcg gttgcctata tttagtaaat ggttcaatgt taataactg 61020  
atgcacacac ataccctttt tgataacctt ctagttgcat atattaaact tggtaataaa 61080  
tgaagaacca atatatagc taaatactgg tgctagtatt aaatcttgac cacacataat 61140  
tttagttcaa accacacctg aggatgttc gttataaagt tataaagtta taaagttata 61200  
caaaagataa tatgtacta taatagtatt aaaccacaaa tctaaaatac agggcgcata 61260  
attgtcaacc ttttatgcaa acggataata tccatatata tacatcatgt ggataattcg 61320  
aataatagct ccattggtaa aataataatg taggcgaatc atggtgatga gatggtttat 61380  
cctaaacctc cccatcgaca tagccatgct atagggacct gaccatttta ccttcataac 61440  
agatctcttc cataagccaa tagctagact aaaccacaga ttagcaaatg tgtacatcat 61500  
atattgtgct agttagtacc aatagaacca tcaggacaat ataaatacta aggaatctta 61560  
gctcttagct tgattagaat ccaatagcaa acacgagtag tatgagcagc cttaggttcg 61620  
acctcaataa ttatattttg ctgtgcata attgcttctt gttgaatatt ggtttttctc 61680  
gcataattata gaaattgtat atcggttagt cgtgaggcaa cgtatgcagc tttcaggagg 61740  
tgaaggttga tcaagattgt atcaagaata atgactattc taagcaggca agtcatcact 61800  
attccttgaa catgttgatc ctaattgcga aattattttg ttacaaaata aaattgcatg 61860  
caatgatgaa catcctactt gtgattatgc catgccttga ttattgttta cccttaaaat 61920

ccttgtaacc atgattacgt atgagtcctt agtcaattat gacaattgct tagagatgct 61980  
attctagaat catgcatact cataattatc aaatgctata tgcttgggca attacctttg 62040  
ggaaggtaat tgagatgcgg catgtggaga catgaacgcc acattgccat gatattaatg 62100  
acatgatttg tgaaggaga aataaaatta aacaactggt ttcgactggg gcggacggag 62160  
gatttgggtg gtatctggaa aaggctagta ccgtccccgg tcaattaagg accgagccat 62220  
gaagttaagc atgaaacgac ccccgtaaa ccgcacttct cgtatgggtg tagacctagc 62280  
ggagtagata gctgagcgga ggcagtatcc atgcatagtg gtttcttgat gtgtgaggca 62340  
ggggctctac ggtggggcag ccattggtag gaccgcaagg cgggtatcta cagtgggtgtc 62400  
gccatcggtg ggactgccat gtgagaatct aaaacataat tataacttaa tgcattgtgtg 62460  
agtccttccct tcccgggtgc gccagaactc ctctcactgc tagaaaccgt gtacgcctag 62520  
agtgcattgag gatgaaaagt tcatggagcg ggtactgcca atgcgagggt atcgaaaagc 62580  
tctgccgtga cgcattcat gtgttgggac gaggctcatg tgttgggcag tcgcggagtg 62640  
cgggttaaagt gtacatccac tgcagtgtga gtaaaccaaa tctattcgaa tagccgtgct 62700  
cgcggttatt gagcaccggg acatgtatta cacttggcta gactctaaat tcttaacttg 62760  
tggggaatgg gatattgcat gatgaatttt atgctgatgg agccacatcc cgagaggagg 62820  
gaaggtagac atcttcagaa aaccatgacg attcaatggc gggaagctat ccttgggatac 62880  
acaatggaag gtggacagaa ccgtcgttgt ttaaagtga cactgggtact aaaatttgat 62940  
cgatctatgc taggttttag gcttgtgaaa agaattgtaa aattagcttt atgcaaaagg 63000  
acctgaagcc attccttgaa ataccctcta tcataatgcat tgttattatg gtggcttgct 63060  
gagtacgggt ggtactcacc ctgtctatct atatatcttt taggagagtg ttgaagagaa 63120  
gcccctgtcg gtacgcttgc gtatcccaca agatgatcgg agtgcggtct tgttctaggt 63180  
ctcgtttccc cagtcgactg cctgtggcat gtttaaccgg cccttatatt attttgtctt 63240  
tcgctgttgt tctctgatag ttgttggcct acctggccct aatgtaagta ttttaactctt 63300  
ttagcctaaa ttcattcgtg atatgttgtg atccaactat gtatgttgtt accaactact 63360  
gatccaggga ttggtacgga taaacacaga agatttccga tttccaaaat cgggggtcta 63420  
cacctgaccc cctcaggggg ggggggtcgg gcccgagggt gatgtggccg cccccctctt 63480  
tgtctccccg aggggtcggg ccgctcccg tcttgcctcg agggctgagg cggcccgacc 63540  
ccttgtgggt tttgcgccgc gtgtatgggt taggtgagca caacggggct cacctaaccg 63600  
tatttatgtt ggtttggacg agcgcgtcac gccgcatgta gcgcagtga gcgcgtcgt 63660

ttatccggtc tgtgaccagt cacagaccgg tcagatcgtg ggtaggtgg caacaggcgg 63720  
tctgacacac gcctcgcccc atcccgctcag gataagagcc tccaggcact tgtccctagc 63780  
ccggagccag catgctaact cctggagatg acacgttggc cccggtcaga tataatgccag 63840  
gcttcatccc aaccattaca agcaagatat tgtatgaaga agggcgaaca tgcagattgc 63900  
tggactgaca cgtgggtggac aagaatgacc gatttgtgac cggctctgaca ctgggtcatgt 63960  
cgctggcaga caaccaigtg cccacgttgc acctgcttgc ggccggagtgg aggtaggtat 64020  
gggccatccc atcagaaggt cgttcggaca gcagccattg caagtctccg cccatttatg 64080  
aagagatgac agggatgatc cctggagaga aaaaaaggag gaccttgccc acttaggagg 64140  
tgaggacgac tgggaaggga gaggatctgg agagtagatc ccacgagagg aaaaaaggga 64200  
gaagagggtt tctagagtaa gagctctctg actctccagc tctttgtagc ttcttcgtac 64260  
acagatccac cagaaaatag gagtagggta ttacgttctc cagcggcccg aacctgtata 64320  
catcgcccggt gtctttgtgt tttttcattc tcgcgaactt tccacagact aggagcttag 64380  
aatctcgccc agggcccccg gccgaaccgg caaagggggg cctgcgcggt ctcccggtga 64440  
ggagccccac gctccgtcaa ctttggctta taattaaaaa tactctaagg atatTTTTTT 64500  
atatTTTTatt ttcttatgtc tataatgaaat tttaaataag atagatgggt aaacatatat 64560  
tggaaaaaca tatatccaaa agtccactat cacaagcgta gcatagatac gattacaata 64620  
cgtttccgcg aagactgttt atacctactc tatccctgtt tccttgtgcg gttgtgccat 64680  
ttggggctgt tttttcatct cggattaaact cgcgtggaaa ccgcgagacg aatgttttga 64740  
gcctaattaa tccgtcatta gcatatatgg gttattatag cacttatggc taatcatggc 64800  
ctaattagac ttaaaagatt cgtctcatga ttacatgca aactatgcaa ttagtttttc 64860  
tttttatcta tatttaatgc ttcatatatg tgtccaaaga ttgatgcga tgttctggga 64920  
aatctTTTT ttaactaaac atgcccagg tgtttctcca attaagtga cccaaaatca 64980  
ttcggcgtca ctttgtctt tcactttcct tccactacaa ggtgatgaca ctgacaaaag 65040  
gtccaaaagc tacaggatct gatTTTTgtt catccatctg tgaatgtgtc gcaagccatc 65100  
catggagtgc atccactcaa ctctctctc tcagagagag agagagagag agagacagac 65160  
agacacatgc atgatagatt gtgctagtag ggtaglaaca ttttatatgcc tctttttcta 65220  
aaattctagg ttgtttggaa aacaaaaatt ctagattgtt caataaatta ataatatag 65280  
gtatttatTT taagtcactt taggtgttaa tttttgaatt ttaaactgct taaactctct 65340  
ttcgacgcat ctgagagcag gtacaatagc agactataag ccagctataa atatatTTTa 65400

agtagataaa agaggaaaaa taagagtagc gggctataga tttagtagaca gctgcagcgc 65460  
 gagctccaag atacataatgt gtatgacatg tgagaccaa cattaattat gtagtatatg 65520  
 ttatatatgta tctattgtat gaattggcta ttaaattgac tatgggtgtg ttcggagggtg 65580  
 ggtgttggga accatctccc aagcacggaa aacggagcgg tccattatgg cgtgattaat 65640  
 taagtattag ctatittttt aaaaaataaa tcaatatgat ttttttaaac aacttttgta 65700  
 tagaaacttt ttgcaaaaac tcaccgttta gtagtttgaa aagcgtgcgc gcggaatatg 65760  
 agggagaggg gttgggaacc tcctcatccg aacgcagcct atacatgatt tggagccaat 65820  
 agttggctat aatattaaac ttgctctgag tggctcttga atcatcgaag tgatagaaat 65880  
 cataatgcaga aatgtttata ttigtgatgt aaaatttgaa tctaaaatta ttatatTTTT 65940  
 gaaatggagg aagtactacc taaaacaagt atgagaaaga gacatgaaaa acacaaaatc 66000  
 tagacttaaa aataattgga attactagca ggaggctcga gtcaatcaag acggcgaaga 66060  
 aaagcacagg ggacagcaga cacgttaaca cgtaagtaaa caaacaagtg gtttaattaat 66120  
 tagggggccc tcaagtctcc cctaaagcca cttaacatga caggtttgtg taccatggaa 66180  
 aaaagggtga agcaaaactt tattctctct ctcattagat taccagttgg aaagcaatcc 66240  
 tgggacctct agctaactct attattgtag aacaacgttt tcttagagag agagagagag 66300  
 agaaataagt caataaaaat tactactaat ccacttgaac cagttctgtc ggtgtcggat 66360  
 gatttaccac atttgacgaa acggactatt tattcgacgt ttcgaaaaac acactttttt 66420  
 agaaaaaaaa aactttctct tattagccac tcgttttagt tataatacta tccgagtatc 66480  
 tgttaagttt atttatcaaa atatttaatt tatctctata attaaatata caatccgtaa 66540  
 aaacaatcac gcagtaattc gtttcaaact gagcctcagc tagaaaatca aaatggaaat 66600  
 gaataacaat agcaacagta gagttagttt ttcggcttat catccgcaac ccaaatgcga 66660  
 attttaaact tagccttaga gtttaatttt aaggcttgtt taccatactt cattttccca 66720  
 gcattagttt cttttgtcac taaaaattgt ttttttaagt tgtttcgttc attttctcac 66780  
 ggtttatcag cagtagagcg aagccattct tggagcctgt ttggcacagc tctagctcca 66840  
 gctctagctc cactctttct ggagctggag ctacagccaa cagttttagg tgcacaaaaa 66900  
 ttaggagtgt agttgggtgg aactctctca caaaaaattg tggagctgga tttagacagc 66960  
 tccacaactt cactccaaac ccaactcctg aagttaaatt gataagttga agctctatct 67020  
 atcaagccct ttttcttgat catgcttcta cctactccat ttttgtttct tggccctcac 67080  
 aggaattgga aaggaaaggc gtatatgcat caatgcatgc atgcgcacat caacctcgtc 67140

catcaacat cataatcat atcatctcgc cagctgacga aaatgacctg catccatcca 67200  
tcacggacaa tccaagcgaa caccgctacc aacatcacag ccaacctgtt tatcactagc 67260  
tcttgatacc actcctacat aaacactacg cgcagggttaa ttaattaagc gtgattactg 67320  
aagtaacatc taatcacgtc ctgggttagcc ttttaataaga caacagttag agcagggtaca 67380  
atagcagcag gatataagcc agctataaaa aaagagagaa aagagcaacg ggctacagat 67440  
ctatagccag ctgtagcatg gacttcaaga cacaacgtgt gtataacagg tgggaccaga 67500  
taataatagt gtagtatagt aagtaactat tataatatatt gactatagat gatttggagc 67560  
tattagtgtg ctatagtatt aaacttgctc atagagcagg tacaatagta ggatattagc 67620  
cagctataaa catattataa tgagataaac attgatagag aagagcagcg ggctacagat 67680  
ctgtagccag ctacaacacg gactccaaga cacaacgagt giatgacaga tgggaccaga 67740  
tattagtagt atagtaagca actattatat aaattaacta ttacattggc tatagatgat 67800  
ttggagttag tagtgggcta tactattaaa ctttttctct tagcaaaaat caagcgccta 67860  
atcacattag aggagtagct ttgagacaaa ccaattagcg gcgaatcaag cgatctgcgt 67920  
ggctcgtacg tgatgggccc ggccgggccc acagcccgac agtgacaggg ggcccgacgc 67980  
atgtcagcct cagccctgga cgggagctag ccgttgtgtc cccgggggag gggagggggg 68040  
cattcccatc atttcgcccc tccctcgggc ccacatctca gtgggggtta aggtgtaaat 68100  
tactgcgacc gcgagtcag cgagcctaga ttgggacctt gtgtccgttt gactgaaccg 68160  
gagctactcc ccaatacggg gggattgcgt tgtgtgcatg ccatgtgggc ccgagcgcgc 68220  
tttgttcgtg gctttgggtt ggaaagggtga ccgtgtgagc tgtgcggtgt tgtactacgt 68280  
attagtataa atcatttttg ggtactactc cctccgtcca aagcittatt ataatttgtt 68340  
gtactccaac cgtccgtctt atttaaaaaa aatataaaaa aaattaaaaa aataagtcac 68400  
acataaaaata ttaatcatgt tttatcatct aacaataaaa aataactaatt ataaaaaaat 68460  
ttcataaaaa acggacagtc aaacattgtc acgaaaatct aatgtttgcc ttttttttta 68520  
agaccaaggg agtatctacg aacaaagata atacatgtta taatcatgaa gcccatgatg 68580  
tgattagccc ggccgtttga ctaacctcac gagctacgtg gctgacaagt ttaacttgtt 68640  
aactccatca tttcggatac ttagagcatg tacaatagca gactatlagc cagctataaa 68700  
catattttta tgggataaaa gatgagagag aagagcagcg ggctacagat ttatagccag 68760  
ctgcagcagc gactccaaga cgcaatatgt gtatgacagg taagaccata tgttaatagt 68820  
atagtaagca actattttat aaactggcta ttagatcggc tatagataaa ttggagctag 68880

tagtggacta tactattcaa ctgtctctta tatgatataa atattgatat aactatatga 68940  
ttttgttaat gacatgtttg tttatggatg gactatgtgg ggicggtcgc ctccgtagct 69000  
gacccaaaata caaacttaaa acccctatct ataaaaatct aacttttgtt tataaatata 69060  
gatataaaaag ttcataatta gagccctatc ttttaaacga aaagagtact atgaaaacaa 69120  
ctcgtaatac aaagactaat tacgacgaaa agaaaatagt actgacaaga ggaaagcagt 69180  
gaacttgcct actccctccg taaaaaaaaac caacctagac acggatataa cactatata 69240  
ctagattcgt tcgttgtaat gaagtgtcac ctccgtatct aggttgggtt tttcgtacga 69300  
aagaagtaig agtaaatcta aagctatgta tacccttcgt caaaaaaaaaa aaglaaacct 69360  
tgtactggig cgtgtcacat cctaataata tattgttttt tatggagggt gtacagtiga 69420  
aaaaaatiga tgtgttttaa ggaatgaaaaa tatggtaat gttggctatg taactctaga 69480  
aaaaaaaaatg cagtaataat aaaatgctaa ttgtctggag tactagatta tagacaatcc 69540  
agtcaggac acgacacct cctactctc tccacttcca ctctaccgg ccaccgcgcg 69600  
ctctctctct ctctctcccc ctctctccgc aagattcttc ccccaaatec caccgatcc 69660  
accgccgccg ccgcctcgcc ggagtcctat cgttgcacc gccgccggag ccgcggccccg 69720  
acgccgccg gccctgcttg ctgtgttgtt gaggagggtg agttgtctgc gctcgttccc 69780  
gcggccacct ccgcctgctg ctgtctctgc ttcgcctggc attgcgggga ggicgttgtc 69840  
cgggggacgt gggggctcgt gttggagcgc ggctgccgtt gaggtagggg gtgcggcgcg 69900  
gcgcggctcg cgtctgtgcg ccggtggcgc gggcgcgggg ggaagcgtac gggggagggg 69960  
gagtgtggcg gcggcgcgcg gcggggtagg gacggcgccc gccaccacca ccggctcgtt 70020  
cgctggcagg cgctacgcgt ccagatccgt acgccggtat gcttcgtctc gccgcaactc 70080  
tctccatttg attagtatcc cctcgccgaa acgaggcctg tgaggcgccc gctttctggc 70140  
tggttccct gtactcgtg ctgtctctg cctgttgggt taaccctgtt ccatcgaatt 70200  
tgggtaagcg aaacatcgcc tcatatgggc atttgggggt ctggcagcct taggctcgcc 70260  
atccgtcgcc gagcttccaa gtgaccggcg ctgttggta tatttgcttg ctgttctctg 70320  
tttgggtggc gcgctaaatc ttttgtgtg cattgaattt atgccacca tatacagcaa 70380  
attactgagc tgaataaatt cggctaatta ggtccagcaa tatgacatct cgtggattga 70440  
atgctaagct gacattgtat cactgatgct ggcttatata taggttgttg agaagtgaag 70500  
atgtcgacag gtgaaacct gcgtgcagag ctatcatcca ggacgccgcc tttcggtttg 70560  
aggctatgga ttgtgatgg aatcagtatt tgggtggta tcttctttat actaggtttc 70620



atgtgcctct ggtccatata ccgaaggaag ccgaagaagt cctttgataa gattccagta 70680  
tctcaaatcc cggatgtttc caaggagatt gcagtagatg aagttcgtga gcatgctgtt 70740  
gtcgaaaact tccgtgtgca agaaagccac gcgatatcgg tgcaggagaa acattacgag 70800  
aaagattcag ggaaaaatgct ggcacacttg gttaggagta aatcgagtga tgccgataat 70860  
ttgagccaat gcagctcggg gtaccaatgt gatagggttg gtagctcgta ttctgggtgat 70920  
gaaggcagct cgggcaatgc taggaggcac ttttctcaat atgcaactgt ctacagcatcc 70980  
cctctgggtg gtctcccaga attctctcat ctgggctggg gtcattgggt tactctgaga 71040  
gatttggagc atgcaacaaa tcggttttcc aaggagaatg tcattggaga ggggtggatat 71100  
ggggtagttt accgtggtcg actcataaat ggaactgacg tcgcaataaa gaagcttctt 71160  
aataatatgt aagagatcct gaaatctatt ctgcgtttta cagaacttgt gactccttct 71220  
gatgccatca tattaatttt cttttgatat ggtgctgcag gggccaggca gaaaaggagt 71280  
tcagggttga agttgaggct attggccacg tcaggcataa gaatcttgtc cgccttctag 71340  
gatatttgtt tgagggaatc cacaggtaaa gctattttat aatcaccttt gctgatggat 71400  
ggctagcttt tgtttctact ggcacattat ttacttgcag agggatgtag gattgctctt 71460  
ggtctatgtc cacctactca ccagattatc tcaagggata ggttattcct gactgcactc 71520  
cttatgctat cgattttttc ccttccaaat ctgatgggtg gattcagcat gcccagtgac 71580  
agattatgct cagtcacacag aaaccttctt tggaccacca ttcttttacc atgaaaatgt 71640  
ggccatagct ccgaaagcta ggattcacta gaagcgcaca actgcttatt ggtttgttag 71700  
ttggctataa caaggcttta ctgaaatgta ctcccatagt tcattacttt gtgaatgcct 71760  
gttcttgttc ttacgtttc ttctcatgca tgttcaattc taaatttgta ttcatgatat 71820  
gtccaagcta ctgtattctc caaagaaaat cagaagtcca ttacacctatg tattttccag 71880  
ttttccgcca ttttggatac tgctctagaa acaagttaat aatatagata tttatatggg 71940  
ttggccagtg ctgcttaagt gaccatcgag atagaaattg ctttaagaaat atactaagat 72000  
gttgagtgtc aggtgttttc ggataatctt gttaccaaca aataggctct atgaatataa 72060  
tgggtgtctg ttacagtaat tcaaaatcca cactcagcca aaataatctg caatagggtg 72120  
ttgaaaatat gattatgttt ctcccttgtt ttcatcatga ctacagaaat gaacaatgtt 72180  
gtacacatct gtaataatth gtggttttca attgaacaaa acatccatca aatgatatct 72240  
acagcaatat attttgcact tctgagcaca caatagggtt gagtgtattc gagtcatggg 72300  
cattgattha agctttttat ttactacat aaccattgat ttgagtgtat ctaaggagtt 72360

ctgtttccac aagtacttta tgttaatggt gtctccttat gctttggcca tccaaactca 72420  
ttactgttgt ttaatatitt tagtggtag tgggtgccaa atctttcttt gtgtacatca 72480  
tactatgttt ttgtagtcta ttaaacttcc atcctatcat ctgacttggt atattccagg 72540  
atgcttgtat acgaatatgt gaataacggg aacttagaac agtggcttca tggtgccatg 72600  
cgccaacatg gtgttcttac ctgggaagcc cgaatgaaag ttgttcttgg aattgctaaa 72660  
gcgtaagaaa caaaccatcg tccccgtcaa aaagaaaaga attgttcttc acttagctc 72720  
ttttatatgt atatgttttag ttgcataacc cattttccat aactgaattg gtatacaggc 72780  
ttgcttattt acatgaagca atagagccaa aagttgtaca ccgggataac aaatcaagca 72840  
acataactaat cgatgaagaa ttcaatggca aactttctga ttttggcttg gctaagatgc 72900  
tgggtgcagg gaagagccat atcacaactc gagttatggg aacttttggg tatgttgata 72960  
tttttttggg gttagtatta atctttccta tgccttagctt ttactgttgg aatgtgcagt 73020  
acttcgctta ttcatacagt ataaaatttt acatgctgcg aactttgtcc ttcgtatatt 73080  
ataacaggta gctttctcat tgcctatcatt gattcatttc aggtatgttg cccctgagta 73140  
tgccaacaca ggtctgttaa acgagaagag tgatgtctac agttttgggtg tgctattact 73200  
ggaagcagtg actggtagag atccagttga ttatggccgg cctgctaatt aggtgagcat 73260  
atatectaca atctcatgcg tattatgtat gttacaaaag tccgtactat tggaaattat 73320  
tttacggcaa aataacgtct atactaggag agacgaattt gcttcagggtg tatggctgtc 73380  
tggcagttgt ctactgtcta gttacccttg tctcacitit acagictatt gttttatttt 73440  
tcaggagctg actagctgta taccitgtca tatataacaa cactgtaacg tggatgccit 73500  
gcagggtgat ctagtggagt ggctcaaaat gatggttggc acaagaagag ctgaagaggt 73560  
agttgacctt gacatggagg tcaaaccgac cattcgggct ctttaagcgtg ctctcctagt 73620  
ggcactgagg tgcgtcgacc cagactctga gaaaagacct actatgggtc atgttgttcg 73680  
gatgctcgag gcagaagatg tcccatcccg tgaggltgta acgctttctc ctttcttgc 73740  
ataacatica tcatattata tcattgcaat aaatctgaag cttttgctgt aatcctactg 73800  
aaggaccgga ggagccggag gggcaacact gccaatgcag ataccgagtc caagacaagc 73860  
tcaagcgaat tcgagataag tggcgataga agggactcag ggccatcagc aaggtttcaa 73920  
ctctaagaag acggtgatca tagtcaagaa caatggcttc aaaactctat gcagtaacat 73980  
ggtggttggc agagaaaaag gggatattct ggagggcatt gcatittgta ttgtaggtct 74040  
gcatggcggg agagactgga gagagcacag tgcttgatga tggatacccg gagacctgta 74100

attcccatc agtatctgt ttgttagtca agcagcttgt acagatcgtt gtctgttcca 74160  
ttttttcatt cttctggttt ttttgtttag gaggctcttg gattaccagt acgaaccgct 74220  
gtctcttttc tagaatcacc aacatggaac ctatcaatat ttactactag tactacgact 74280  
tgccttcctc ttgctgagat ctatcatgta ctgtacataa ctgacgtgtt cagctgcact 74340  
tggacaagta gatgctcgtt ctgtatgtcg aatttacttg atgaggtcga gcattaagta 74400  
ccatggctgc agccggcttc tgtttagtgg tgcigacatg cggcggcgac ctacgctgt 74460  
gtggcccatc cttgatcttg ggccgaaact gtagcaacgg gcgtacggcc catctatata 74520  
gggatgttc ggcccgttgt agatgggccc gatcgggatt gcgacttacg tgcgacccat 74580  
ttcgggtggg cgggtggctc gctacttcat ctagcagtgg tcggcggcag ggttcacaat 74640  
tccaatagaa tccaaacatt attggattga gttaaaaaca caaaccaatc ggctttttgt 74700  
caggttcaga aaattttaaa ctgaatttta attttttgac aaaaatctat ttagatttcg 74760  
tctgtttttt taggtttgtc aacggattca gcgaaatccg atgatatcgc tcgtgagttg 74820  
atttttgatc cggtatcgag attgtgaacc cttgtcgcgc attgcctgac aaagacaacc 74880  
agtgaagcgc cgtgcgcgcc gcgtgcgcgc cgcgtgacgc gaagatgcgc aggaaggaac 74940  
aagctggcaa gcggcgcgcc catgacggcg gcggcgacga cgacccgcgc gcgtgcgtgc 75000  
gtcaacgcac gcgaccggcc gagatccgtc agtggccgcg gctatatata atacatcgtc 75060  
gcctcacacc cccacacac cgagtcacgc ctgcgccgag ttagagttcg tagcggcgaa 75120  
ggatatagcc atatatata gatggcgatt ggtgttgggt gctgctgcgc cgtgctgctc 75180  
gcggcggcgc tgcctctctc ctctccggcc accacatgta agcacgcca tctctctctt 75240  
cttctctctt tttctctctt tttttttttt tttttggaaa tgagccgcag ctgacaaaaa 75300  
gateactcac acatggatac actgtcgtga cactaaccaa tgcctaagcc attttgtttt 75360  
cttgttttgg atttttcttt ttatgtgtat cacttttgct tgttgctctt gcagatgctt 75420  
atgattccct ggatccaaac ggcaacatca cgataaaatg ggatgtgatg caatggactc 75480  
ctgatggcta tgctgtaagt agcggttgca gtacaccaac atctctacct ttattttcgt 75540  
ctcaacctgt acatttacac tatctgttc tactacctct aataaaaaaa tatatttgat 75600  
gttttaaaat ctattaaagt ctagagattt ggaaagctac acatggtttt atgttttgat 75660  
actattaagt agtatatttt ataagttata ttgaaggctg gggtttcaaa agtttgacta 75720  
cactagatct tattcaaage gtctaataat tactgaacgg aggaagtatg aacttataga 75780  
cttgaagtta aacagcatag ccacatctct tcatgtatac ttcatccgtt tcatattata 75840

agatititcta gcattatcca tattcatata tgtgcgtcta gattcattaa tatctatatg 75900  
 aattgggcaa tgctataaaa tcttataacc tgagaaacgg agggagiatg tcgcaaacia 75960  
 caacaacaat aacaacgagc aaaatctgta tcgaatccgg tttccctctt gtaactgtat 76020  
 caaagatctg tcctctgaaa cgtccctctgt tcatcaggcc gttgtcacac tgtccaacta 76080  
 ccagcaattc cggcacatcc agccaccggg gtggcagctg gggaggacat ggcagcagaa 76140  
 ggaggigatc tgggtccatgt acggcgcgca ggccatcgag cagggcgact gctccatgtc 76200  
 caaggagggc agcaatgtcc cccacagctg caagaagcat cccaccgtcg tcgacctcct 76260  
 cccgggcacc ccaatcgacc tgcagatcgc caactgcgc aaggctggat cactgagcgc 76320  
 attcagccag gaccgggcaa attctgccgc gtcgtttcag atc 76363

<210> 28

<211> 53905

<212> DNA

<213> Orza sativa Asominori

<400> 28

gatcagtgag tgagagtgat gtgctattga ttttcgtcta ggattttgct gtgctcttct 60  
 tcttcttctc ctctctacca agaaagatcg atggaggaga atttgttagga cgcgtttctc 120  
 acgaattact tagctgita tgatcagctt gatgigtacg atatgatggg gcagagtga 180  
 agttgtgttg ttcactgggt gatcatggga tgggaatatg ggattgttgt aagatgtaac 240  
 tcaagtgttt tcttttttgg gattactttt ggtaataaga gcttgggtga tcgaaaacta 300  
 cagatggttt tctttttaag ttgtatgac tctgtagagt ttttgagtaa tttgtagt 360  
 tgtaccctat caaagatcat ctctagctgc ctctgagctc tccaactcta tatgtccatc 420  
 tctagtatat atgtcccata tttctgactg aaaattttca agtcggttgg ttcctccgc 480  
 ctggatattc tttcagctaa ttagattttt tttaaatgat aaatttgcta aaagcttgtt 540  
 caaattcage taagatctat tcaaacttca atttctctat cgaaattccc ggaaatttca 600  
 attcaatcat tccccaatac atgccgattt ccgtaatat gaaccatgac atgtaaacia 660  
 cgaaggaatc aagggcata ttagtttcat ctccatcga atatacggac acacatttga 720  
 agtattaaat gcactctaata aacaaaacia attacagatt ccgccagaaa actacgagac 780  
 gaatctatta agcctaatta atacatcatt agcaaatgtt tactatagca ccacattgtc 840

aactcatgac gcaattaggc ttaaaagatt cgtctcgcag tticctgacg aaccgtgtaa 900  
ttattatittt ttctacgttt aatactttat giatgtgccc aaatattcaa tgtgacaacg 960  
tgaaaatttt tatttggaac taaataggcc ctaatatctt ttcaagatat tagaatagtt 1020  
atccctctcc acctccctgc acaaacagtg aacttccttc tccctgggca caggagtagt 1080  
agcagctccc ggaaacagaa agcaatcaag caaagtcctg aacctgaagc atcctgaaac 1140  
cagcagacgg cagaaaccag tgggcgcagg cgatagcagt ttttcgtggt ccggcgtaca 1200  
gccaaaatac tggccatcgg gtgcctacat agaattgagtc cactggacgc agctaccacc 1260  
gtgtgtgcta cactgaccgc cgcgtctcgt cgaccagtgt tacggggctg acttattctg 1320  
aatittctaatt ggtttatttg ggggtttaga acactgaggg gtgcctttaga tccaaagatg 1380  
tgaagtittg gcgtgtcaca tcgggtatta tataatagtt cgcacagggt gtttgggcac 1440  
taataaaaaat actaattatt gatcctatac gataagctat ataatactcg atgtgacacg 1500  
ccaaaacttt acatccctga atctaaacac ccttttaaat agagtatttg gtgtgaaata 1560  
taattttgat ttgggaagaa ggtgagtgag atttggaata aaaaagcatt tcaattaaaa 1620  
aatitgccag cagttaaata agaaactact cggttttgta attaaagtga ggttttggca 1680  
cttctttgcc cttaaactggc ctccatttta taaagtgaga accgtgcagc aaaagcctga 1740  
aaaggcaaaa agaaagaaat tglagagggt tticaggagg atacaactag gtgggtctct 1800  
aactctctat gcagctgtgg tctgtggagc aaaacgatga aatggaagac gggacgttga 1860  
cgagggtgaa gaaaacgagc gtttgaccag cgtcaacat ggctgaaca gtagcaccac 1920  
taacctgacc gagaggttga agaagatgca atcaacgggg tactatagtt cccacgaatt 1980  
tcccagcaac aacgggttgg ttctcactac tcacgaattc cctgtggctc aacaactact 2040  
agtacatcct ttigtccatt atgataaaag ttctatctta atttttatit acacgttttt 2100  
caaactgttt tttaattttc tatataaaaa atacttaaaa tatcaaataa aatctatitt 2160  
tggagtttta aaaaactcaa ttaatcatat atattattga cttatittat ttacgtgga 2220  
ctaaaatata ttcactttca tttaggttat gttcttttct catcaagata catgatacat 2280  
tagcatgttt ttcaaactgt tttttaattt tgtatataaa ctactctaa aatatcaaat 2340  
aaaatttact tttagggttt ataaaagtaa aactcaattt atcattacta acttgtttca 2400  
ttttacgtgg actaaaatat ctctacttct atctaagggt gtgtttggat ccaaggacta 2460  
aattttaatc cctatcacat cggatatitg acactaattt gaagtattaa acatagatta 2520  
atgatgaaac ccattccata accctggact aattcgcgag acgaatatat tgagcataat 2580

taatccatga ttagccctatg tgaatgctgta gtaaacaatgt actaattiacg gatttaattaa 2640  
gcttaaaaaa tttatctttac gaattagctc tcaattatac aatttaatttt attgittagtt 2700  
tacgttttaat actttttaatt agtatacatc cgacgtaaca ctgatcgata caaacaccaa 2760  
ctaaatcgaa aatcaccgaa tggctcgtca tccctcccaca tgagatgcca agatggaaca 2820  
ccaacaatcc aacggctagg aagcgcccca tcccacccac cgcctaaccg ccttcctatg 2880  
caagtgggtc ccaccccttc ctcccttttt tttttctttt tacaaatccc ctcccttttc 2940  
ttggctagct agctagcttg gcccaacgcc acgagccgag ccgagcacat ccggagccaa 3000  
gccgagctca gcgcctcagc tccccctcct cctcgtccca tccccggttt cctcctccga 3060  
tttcccccaa atccgcacgc ctctccccct cgcctccatt tttcccgatt cccaattccc 3120  
aaatccggat cagccgcagc cgcagcagca aaaaatttcg aaatccaaat ccaaaccat 3180  
ccccccacg acgacgtcac ccacatcccc acccccgca gacgagacga gacgactccc 3240  
aaatctctct ctccctctct ctatgcgcgc cgcgcgcgc gccgcagcag cagcagctag 3300  
gaggcggagc agcagcagca gcagcagctg agatgatcgt gcgcacctac ggccgcagat 3360  
cccgtctctt ctccgacggg ggaggagggg agcgcggcgg cggcgggtggg ttctcgtcgt 3420  
cgcaagacgc gtctgaattc gacggggagg aggaggacga cctcgtcctg ctggggctgt 3480  
cgtcgcagtc gtgcacccg cccgcgcgt cgcaggagtc gtcgtcgtatg tgggacttcg 3540  
acgaggaccc gccgccgccg ccccggcggc ggccgggggag gggtaggggt ggggactacg 3600  
cggagccccg cacggcggcg gcggcggcgg cggcggccac ctgcctcatg gaggcggagg 3660  
agtacggcga gatgatggag agcgtggacg aggcgaactt cgcgctcgac gggctgcgcg 3720  
ccaccgcgcc gaggcgggtg cgcggggcca gcttctctgc gctgctcggg atctgcgcct 3780  
ccgcgccgcg ccgccgcgt ctccgggccc aggggtcgtt acaccaaaga accctccttt 3840  
tttttttctt acttgctctg gctgtaagta aagaataaca attcgcgttc ttgctcttgc 3900  
ttcgcgggca atcttggta ggaatcttgt tagggttatg aaatlgggca gccagtcttt 3960  
gtttcttctg cgtaatcttg gcggaaacag tgggattttg tacgattatg gctccgtaat 4020  
cggcatttct gtgggaaatg aaccaccttt agggcatttg acctcgaac agcatgcttg 4080  
gtgttgcaat ccgtagctat tgccttcac ttaggcacaa gaacttgctc tgaattatga 4140  
tttaccact tgtgtttgtt ttcttgttct gagttttctt gcttggttag ggttagggtt 4200  
atcacctgg tgggtgcagaa ttagatgttc gctactgtc ttaacctctg ccttgcccaa 4260  
tttgggtaccg agtgttacag ctgggtttag gaagtgtgat ctttgagcat ttctagcatg 4320

ttgggtctctt tatTTtgcta atctcacatg gttgtagagg aaggaagcat agtgactgat 4380  
gatgaatgcc tagatactag aaatacatct ttattaactg aattaggatt gcttgggiat 4440  
ctatgtagat atgactglag aatgttactg ctggaaatgc tatccaatat ccattgatct 4500  
ctagcctaata atatctctcg aggccaagag atcagtcaat ttTgaacttt caggagagtt 4560  
tctatttggg acttaatctc ttttatTTgt tacttttggg gcctggctct cttttcatga 4620  
ttgctaagta gacaggtaaa gtTctaccta aaattattct taaaagtTca aaatcgcttt 4680  
agattaagga gtgccagcca gagccttagg cagagTctta taaaccaaaa gcacaatgct 4740  
acaatgtTca caaaactttt gtTgaatttc cacttgagct gtataaacat cgcaatctac 4800  
tgtgaataaa agaagcactt gatTgaagtt catgttagca aatgacatgt tttctgtgag 4860  
gaggTtgatt gctTgaactg ttaTggactc ttTgaacttt ttattttact tegtacccat 4920  
ttatgctaata gtgcacaaat aaaattgctg agagTaaaaa tgtacaactt gttacgcacc 4980  
agcacacttc ctatttgiat ccattttcct gtTgaatttc aaatgtattc aattgctgaa 5040  
attgttccat tcaacaaaca catattccgt taatgaaatt attatacatt gcgttttgtt 5100  
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcciataga ttggTgcaac aaattattga 5160  
tgcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attggTgcag ctgctcttct 5220  
attcgTTTTg gcaagtgaTg tgagTacctc tcaatcccat cctTgtgctt ctgtgcatgc 5280  
ttcatctat tttttacgca tatcgattgt tttcttttat ataacagccc ataaaaataa 5340  
tcacatcatg gcaaagtTat ttatttctcc agTacagtta talaagtatt caccactttt 5400  
ccatgaatat cttggcatgt gattacaaag aagattattt aagaaagTcc atgcttttat 5460  
ttcatcattt tgtttgaagt tgaactttaa tttatggTgt aaatttcagt taatattgct 5520  
agcagctcgt attctttaat ggcataactt cactTgtgct tattctccaa tatctccctt 5580  
ctTgtTgttc aggtTcaaga aaatcatttg ttggattcag aatctTgtgt ccattttctt 5640  
ctTaaattat taaatcctcc agTgaatctt gttgatTcca aagcaccatc gataggTtcc 5700  
aaacttcttg gaatcagTaa agTtcaaatg ctTaatggat caaataagga ttctgactgc 5760  
atttcagagg aaatcctttc aaaagtTgaa gagattctct taagctgtca agagatcaag 5820  
tcgctcgaca aagatgacaa gaaaacaaca aggccagaac tgtgtccaaa gtggctTgtc 5880  
ttgtTgacaa tggaaaaggc atgctTgtct gctgtttcag tggagggtaa gttttaatca 5940  
aatTctTgg tcatgatttc cttTatgac cattataatt atttttatga gccaaataag 6000  
cagttgccat aagttacata gcacctgttt acaatattca tgggtggttt gcttagccct 6060

ttgcttcacc tgcctttgat tgaatgacttc catccgtgtt gcacaactga attggagtaa 6120  
ttgactgcac tagaagcacc taaggccatt gtcatactag gaaggttttc ccttatcaaa 6180  
tatttgattg ttacagagac ttctgacact gtgtccagag tcggaggaaa ttttaaagag 6240  
acattaaagg agttgggcgg tcttgatagt atttttgacg ttatgatgga ttgccattca 6300  
acattggagg tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca cttectttgt tcaactctaa 6360  
aggatggatg aagttttgtt cctttttgcc attttagctt taatgtgctt gaagccacat 6420  
gaaagcaatg ctgtgtccaga tacatagcca aaggttgtta ttttttggga catggaaaaat 6480  
gcttgaggta gtaactatit tcatcaggac atggaaaatt ggctgcatca caaatatgt 6540  
tgtttcatgt tgcaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg tgttagigtc 6600  
ttacagtgat tctctgatg attatattcc ccacgataat aatactgac atatctacac 6660  
caagtggaca ttattcattt ggatgttact tttccagcta tacttgctgt tcttgcataa 6720  
actttggagt aaattgctga tcccittaa agataaaactg ctigtgtgtc ctatctgtgt 6780  
actttttatg cccccaacta ataattgcaat catattacgc tgataaaactg aataaataaa 6840  
ttaacaatat acttctgggtg gaaacctgt gtatcagaat ctcataaagg atacctcaac 6900  
ttcagctttg gacctaaatg aaggaacatc ttgtcaaagt gccgctctcc tcttgaaatg 6960  
tttgaaaata ttggaaaatg ccacatttct aagcgatgat aacaaggtaa tgttccittat 7020  
atattctgtt tcagtttagt acccatttct ttcttctgta ccactctctc ccttcatttg 7080  
ttctgtgcaa aatgtgcaaa cagtgtgact ttgtatttct gcttaacatt tttctttttt 7140  
tcttgaaaag cagtataaac tcttacactc attttgcttc ttgcagacct atttgcttaa 7200  
tatgagtaga aaattgtacc cgaaacgctc ctgcctttct ttgtttgggtg tcattatcag 7260  
tattattgag ttattatcag gtatttttct taataatata atatgtccgc taacacaata 7320  
aaatgtttta aacatccagt atgttaaagt tgcagctcga cgcctatitt gttttgctgc 7380  
agctctttca atactgcaga attcttctgt tgtttccagc tctacatate cgaaatcgtc 7440  
taaagtctct caacagagtt gctctggtaa taacaaacac caaatttgtt tgatcaactc 7500  
gttggctttt ctgtgcactg ttccaatata gtttggctgc cattcaagtc tcaactacaga 7560  
tgttgaactt gacctgacac ggtggcacca atatttataa aacgctacct gatattttta 7620  
atatttcatg tttcctgacc cagattatct tgttgggttc tcatataagt ttaattagtg 7680  
tcgttcttga aactttgtta tgcagcagat gtcatggggg gaacttcatt taatgatgga 7740  
aagcgcaaga actcgaagaa aaaaaacctt ttgtcgaacc agacacgcca tagttgctta 7800



tcttcaaaat cagaagtttc tcatattact atatcttctg gtagtgatgc tggctctgtca 7860  
cagaaggcat tcaattgttc tccatctata tcaagcaatg gggcatcaag tggttcatta 7920  
ggcgagagac atagcaatgg tggtgctttg aagttagaata taaaaaagga tcgtggcaat 7980  
gcaaaticcaa ttagaggctc aagtgggtgg atttcaataa gagcgcacag ttctgatggg 8040  
aactccagag aaatggcaaa aagacgccgt ctatctgaaa atgtaatcac cgacagtggg 8100  
ggcgggtgatg acccttttgc ttttgatgat gttgatcagg agccitcaaa ttgggaactg 8160  
cttgggtccaa aaaagaaatc gcctcagaaa catcaagaca aatcaggaaa tggagtgtca 8220  
gttgcaagtc atgaaccaga ccaacctgaa gatcttaatc agtcgggtac aacatctctt 8280  
tttagtgcta aagatgaatc cagtcctttg gaagactgcc tcttggcatc agttaaggta 8340  
attaaatatg tttccctctg atctttcttg tttcttcttc aagagaatat acattcttgg 8400  
gtcacagttt ctcggtttgt ctttgtgact ttgttgagtg acatatittg aattcacaaa 8460  
atttcccttt caatatggct cctcaatcta tagcatctgt cgtgtatgta ttctgtacaa 8520  
aatagtattg taacatctcc tagaagaaat tggcaccatc catatcatac agtagcaatt 8580  
tatgagacgt gatccigatt ggaggittag gacagagcct cgagctaaat tgctattgta 8640  
ttgtatctac tatcttttag tacatgatat gtgctgggca ctctgtgtct gagtgtagt 8700  
agtgccttaag tttacatagt tcagctaaca tgcataatgta agacagttaa tgattaaatt 8760  
taagtgtaga aagaaggtag tttcaaaaga tttttaagga caatataatt gtttcaccgg 8820  
gactcatgct tgttctgact gtgagcctaa tgttaccctt acatgccctt acattgtcta 8880  
ttttttatcg ttttatgaga tcttccaaac aacttgatct gtcttaatgt ttttttgcta 8940  
gttcccttct tggatatctg gtaaatgggt aggccgaagt atgaactttg ccttattgtt 9000  
tcaaagaaaa tgaacaact cctggaaaag tctaattttg gttgcccttt attttgctga 9060  
ccgtattggc acacatctaa ttctgtctgt ctttcttggc aggttcttat gaacttagca 9120  
aatgacaacc catctggttg tgaattgatt gcgtcatgtg gtggacttaa caccatggcc 9180  
tccttgatca tgaagcattt cccctcattt tgttttgtcg tggacaacaa ctataacacg 9240  
agagatgtca atcttgatca tgagttatca tcttctcaaa acagcaaggc acaccaggct 9300  
aaaattaagc aattgcgaga tcatgaactt gattttctgg ttgccatatt gggcttgctt 9360  
gttaaccttg tagagaagga tagccttaat aggtaagtcc ctacatgct tccttccatt 9420  
tgctcaattc atatcagtgt tacigtcttg gcagttcctt ggggtcagga ctacagaaaca 9480  
tccaattaat gtatcatgtc tcttaacgac tcagaaatc tttataacct ctccacaggg 9540

tacggctttc atctgcccgt gtccctgttg atctatctca gaatccacag agtgaagaga 9600  
cacagagaga tgcataagca ctccctgtgt cigtattctt agcaagtc aa ggtgctagt 9660  
aagcttctgg aactatatca ccggtlaattc aaaattcttc aagttccitt tgtatgtaga 9720  
ttatatcttt gtaaaactcg gcatttatta cctgctcttt gtttcaaaaa gcagtatttt 9780  
attttgctcc ttagcatagg tcagcagaac agttgatctt attcagaaaa caatatittg 9840  
catgtaacat actgttatct atgagatgaa aattaatgca tgtgtaataa tgtcaatgat 9900  
aaatatitgc tatctgaatc cagtctacca actctagtta gaccgaaatt actgaggttc 9960  
tatttcaaag aataatttag tgcaccattt gtccaactac tatgaagtaa aatggatttc 10020  
cttctattg acatcgggtt agaagtgaaa ggccatctta atgcaatgtt ctcaatgcca 10080  
caaaccaca aatticatta acacatacag attattatta acatagctat aaattggatt 10140  
tccagaagct tgagttgaat ttattttgtt acaattgaaa gcactgggaa cattagcatt 10200  
tttttttagt tcttggttat tgcaatttat aatgttatac agaactgtgt acctcacaat 10260  
gcattcatta tgacattcta tgaaccattt gattgactgt tgcttgtaaa caacaggatg 10320  
atgaggagtc tttgatgcaa ggagcacggg aagctgaaat gatgatcgta gaggcctatg 10380  
cagcccttct tcttgcgttt ctttcaactg aaaggtttgc aatctgtagt tgatggattg 10440  
ttttattaat gtctaaactac ttgcataatg tcagcactat ggcatltaac ttatactgtc 10500  
tgttaactgc aacagcatga aggttcgtgg agccatttcc agctgccttc caaataacag 10560  
cttaaaaaac cttgtgccgt cgctagagaa atttgttggt tgtctccata attcttgaac 10620  
tactgtttgt ataaaaaagt atggatgac tttgaattta ctccattttg gaaatcatta 10680  
atttttcatg tctgaggtgt gaggtgtcac cataattgta cticccatcc aggaagcctg 10740  
tttgcaaaat ttacataaaa taaggaaaat ttgaacttgt ttcaagtttg aatagtaaca 10800  
ggatgtttta tttctcaact ggagaaaaaca ttccggctgg gacttttaac ccttaaaatg 10860  
ctagtgtgct cccactgtaa gattgtctgc tgtcacattt gaaactttgt gtaatacctt 10920  
tatactacc cttgagatga gagacacaat ctggtaacca gtttaagttat tgataactcc 10980  
cagttgaagt acagcaccaa atcaagccaa catgttggct acgtaattaa atgttctctt 11040  
acaacagata gaggtaaaaa gggagtttct aagtaatctaa cctcttacc ctttggctta 11100  
gcactccagg cacaactctt tcttaacttg cgatttagga cttgactctg agaatatgtt 11160  
gtgcccacac tggttgagtg catgcctatc taagctgcta gttttgttc attttgatta 11220  
actctgaagc tgcctgagct tattctgctt ccatcattta ttaatccatc atgtttctct 11280

ttcagtcgtt ccatctgcag ctcaatatga tcacagagga aacgcactca gctgtcacag 11340  
aagttatcga gaaatgcaaa ctttcataga aagagtgaag aggggccctgt acagatcaac 11400  
taacaaccctc ttgacagcaa aaaagcatac acacaagtgt ttgtcttggc ctggggctct 11460  
gcagatggac tgatactctg acctgcagtg ggcttgggag ctaacaatgg tticattctt 11520  
ttttttttta tgttttcccc tgttgttttt gctcatgttt tgtgtaattt ttctctctca 11580  
tctagcgaatg ttatttttct tagcatgatg ggagtagccc tccTTTTTTT ttctctctaat 11640  
taagtgtaaa gtagcaacag catagggatg aatgttcagt gtagtgtgtg gtgtttcagt 11700  
tattcagaga cgtccataca gtttgtacct tgtgaccaca cgtcttaatc tgaatgaagct 11760  
tagaataaat cacatgttag caatgcaata tcatctgcgt ctctctctac ttgggtggcc 11820  
atcaaattct gtgtagaagt gtaagggttg tgtgctgttg caaatgccgt attccgctct 11880  
gttttgtgga agttaagaag tccctagtig aaataccgat ttttcatgat ctcgagatt 11940  
gatgcaacc cgtatgcagc atttcttttt attagaatgt acactccatg ctatcatgat 12000  
gtttattgtt tagtactaca agatttggtt aaccattatt ttaataatcat aataatttta 12060  
taaaatcttg gagtaacaag ttcataatac atgatagcat aactttttga ggctagctta 12120  
tgtatattgt ctcttttgtt tttaaactaa gcactcaata aattatgat ggctgtaatt 12180  
ttctgaaggt ttaccgggtt tcggcccggt ctttataaat agcttcggca caaaagacaa 12240  
aacggctcct ccaacacata aatgggtgag ttacgtttt cattatcttt ggtaaaatca 12300  
agtccaccac gtagacactc ataacaaaag ttigaatatc ctacagaaatt ttgacttgag 12360  
tctatcttac ctttgataatc ggacatccaa cctctccctc ctccctgaac ttatatttat 12420  
tcatattaca cctgaacitt atattattca tattacacce tgaagtgggt ttcatittaat 12480  
tgcatatcat ctgaaatagt ttgacaacgt gagatgcaca aaatctacac gttcgtctta 12540  
agttgcaatt ctttttatcc cttttctttt tctctcttac ataggaatat caatagtact 12600  
aattcacatt acaatatagt ataaattgggt gatcgattat tggcaatata ctatattaaa 12660  
tattcaaaac tagtcattta agctgccaaa taagttaaacc actatcgaaa accacaatat 12720  
aaatggcatt acaaaactta ggggggttgaa tatccaattt taaagttcat gatgctagag 12780  
gaatttctat caaaagtita tgggtacata tggacttttt ctttttttaa agaagctatt 12840  
cttatcgtaa acgttaaata tttttgttac ttattttttt atgattgaaa aaaaaactta 12900  
gttttcaaaa tgattgggtct gtatacaagc atcaattaga ctttaataaat tcatctaaaca 12960  
gtttcctggc agaaactgta atttgttttt gttattagac tacgtttatt atttcaaatg 13020

tgtgtacgta tatccgatgt gacaacaaaa cccaaaaatt ttcctaact ccatgaggcc 13080  
ttacagatat atttgaatggg tgtaaagttt tttaagtict ttgggtgcaa agtttttaaa 13140  
gtatacggac acacatttga agtattaaat atagacaaat aacaaaacat attacatatt 13200  
ctgccigttaa acaacgagac aaatttatta agcctaatta atctgtcatt agcaaacgtt 13260  
tactgcagca tcacattgtc aaatcatagc gtaattaggc tcaaaaatat tcgtctcgta 13320  
atttacctgc aaactigtga atttggtttt tttttcgta acatttaata ctccatgcat 13380  
gtccaaatat ttgatgcgat ctttttggcc aaattttgtt ggaatctaaa caaggatcaa 13440  
atttgcigaa tttttccaga cgtcacggct tgttcatcca tcgttcgcat cgcgattcgc 13500  
caccgacgcc ttggtttcca acgaatttta tcatccgctt aaatacatcc aaagctctcc 13560  
atcgccatcg gcggccaacg gcgaccgtc cgtcttacc aatccacca tccactcgcc 13620  
gccgccccct gatccaaagc ctccgcgcg cgcgcgtcga gaggaggagg aggaggagga 13680  
ggaggaggag gaggcgtgag cccctatggg gaccctctc cggccgcgtc cgtctgcccc 13740  
cgccgcgggc gccggcgacg ccacgccgtc gaccgcgcac ggtagccacg cgcctctcga 13800  
gaggcccccc ccccgccgt cgtgatctc tcttctcctc ctgtttgggt ttgggtttgt 13860  
gatttgggtg tttttttttt tccgcagcgg tgggtggtag cgggtggccg gcccggtggcg 13920  
tggagtgcc gccgcatcgg gtgcgccgc gcccggttcc gcaggttgcg gtggcgacgg 13980  
cgagctggag gaggcggagg gagaccgtgg tgagatcgga ttctgccgt ggtggtgccg 14040  
ctacatggg ggattcgccg caggcgtct caggtttgca gccctctcca ctctcttctc 14100  
gcaaaatgtg ttgctatgtt cctctcgtg ggctggcctc atagccatta atgtagtttg 14160  
ctggaacatt acattcgga cgttgttggc aattgcttga caaaatgtgg aattgtggag 14220  
gggagaaaaa tcgtttgaac ctgcagtgac aaaatlgcca tctataattt taaaactgaa 14280  
ggtgtggaaa tcaaacataa tcattgccag cacatcatc ttgttaacca ccttgacata 14340  
ttgttggctt ataacagtta gctccacacc aacttggag gtgtcaatgg aatgtaaagta 14400  
taaattgagg ataactggca gtgttaaga ctttctacag aacttgtagc agctaaaact 14460  
agctattgtg catttatgtt tcatggaatt tgagcggcaa tggataattc ttactaagac 14520  
gtataatgca aaacaaaaaa aaaaaaaact atgictatgc agtttacctg taatgtgcgg 14580  
atgcaaataa aatcatgtt atggacaaac taatgggatt cataccaaat tccagaattg 14640  
catctcttat gtggttactt ttgtttgttg atttggttac cagacatcga tgtggtttca 14700  
agggtcagag gggtttgctt ctacgcggtg actgcagttg cagcaatctt tttgtttgtc 14760

gccatggttg tggttcatcc acttgtgctc ctatttgacc gataccggag gagagctcag 14820  
cactacattg caaagatttg ggcaactctg acaatttcca tgttctacaa gcttgacgtc 14880  
gagggaaatgg agaacctgcc accgaatagt agccctgctg tctatgttgc gaaccatcag 14940  
agtttcttgg atatctatac ccttctaaact ctaggaaggt gtttcaagtt tataagcaag 15000  
acaagtatat ttatgttccc aattatigga tgggcaatgt atctcttagg agtaattcct 15060  
ttgcggcgta tggacagcag gagccagctg gtaaggctgt agtctcatcc ctgctttctt 15120  
aagtagacat atatacat tt acagtatttg gtaaataaac aagattttat gaatcatata 15180  
tgattttggg gaaaacacaa aactctcttt gttaggctgcc ttgaacatag ttctgttcac 15240  
acagttatag caccttcttt aaaatgaaga actttgttgc atacacataa ggccaaacca 15300  
cataatgaat ttgttttatt tctatctttg aatgttagca tegtitttgt ttaatgcatg 15360  
atgccttcc tatatatatt tagtatgtca acattgtatt ccatgctgag cataacaaat 15420  
ggtttgtaa aattcaggac tgtcttaaac ggtgtgtgga ttigtgtgaa aaaggagcat 15480  
ctgtattttt ctttccagag gggactagaa gcaaagatgg aaagctaggt gcatttaagg 15540  
ttcagtaacc aaacttaggt tacattacat ctaatgagat ttttatattc agtatataat 15600  
gttaaccttc tcatgggtga ctgacgtggt tataaatgtc ccagagagg tgcattcagt 15660  
gtggctacaa agaccggtgc tccgtgtgata cctattactc ttctcgggac agggaaactg 15720  
atgccttctg gaatggaagg catccttaat tcagggtcag taaagctcat taticaccat 15780  
ccaattgaag ggaatgatgc tgagaaatta tgttctgaag caaggaaggt gatagctgac 15840  
actcttattc taaacggtta tggagtgac taaagaaaga tgggtgtttt ttttattata 15900  
tggaacctat tcaaaggcac agacaggctt tcaaggctaa gcttgttaca ggtactgata 15960  
ctagttacta attactttcg taatcagtat aaataagctt gtgtagtgt atggcattgt 16020  
acatttctgc acttggtaaa ttacagaag aggcaagtaa tatittagag gattgagttt 16080  
attcaccag tcatatagtt gaagaggcaa gtaacctgta agagaggact gaacattaac 16140  
acctcttgtt cgattaaaaa tgaccaaaga gcatcaaaca tgtattcgag gctgttactt 16200  
tagatatggc ccattaattt gtttagttgt ctatgtacat cctagttagt gtaaattgcca 16260  
gttaccattt ctatgatc aaacaatcaa ctcttttagt atattttcaa aaacgaaaat 16320  
tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 16380  
accgtgtcag ctggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 16440  
tttcatgcat atcatgctaa ttigtctgcc cacgttaggt gggaattttt ttcatgtttt 16500

ataatttata taigtitttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttccctgagcc 16560  
tctagtatgg ctgatagcag actagggtgct gagtgcctgc cttttttgca gactgaagag 16620  
agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 16680  
ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaaatata taacagatcc taagaactta 16740  
tcttaattta ggagaagttg ctcgtttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 16800  
tcgagtcctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg gcaggccagg 16860  
attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttatttgctaa attttttagct 16920  
acttgcagtt agtgctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgcgtgtcac 16980  
aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 17040  
ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcaattttat tggtaagatg gtatccggaa 17100  
gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattatttg 17160  
cttaagttag cgatatcaaa ttgggggaag caccaaagga attatigtga aggagttagt 17220  
ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatatat atctgctagg 17280  
ttcaaatcct agtgactatg aatatlaatg ggtaaggtaa gggattttat gttaatttta 17340  
gtttctttta gattgtgcca tcggacgcca ttcggttaact gtaataatgc ttgtatttg 17400  
attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcttta ccttttcatc tgtttttgcg 17460  
ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctt gctcaacttg acaattactg 17520  
cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 17580  
cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaatg atgttccttt ccttgatgaa 17640  
ggaacaaaga ctttttttta aagaagggtta ttactaaaaa caaaatgac aaaaacaaaa 17700  
tatcagtga catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttaa acaaaaatac 17760  
ttctataatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 17820  
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaaggttg tgtgcatctc 17880  
tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacaa acattaatcc acgttatgta actttttttc 17940  
gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctcaccggga gaccgcgcag 18000  
gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 18060  
aaggttcgcg accgtcgaag gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 18120  
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt ggggggatct gtgtatgaag gagctacaaa 18180  
gtatgagcca gcctctccct tgttctgggt tccgaatctg gaaaagtcca gtccagtcct 18240

ccccctctaag tgggcaaggt cctccctttta taticttaagg ggataccaca tgcaccatct 18300  
ccctcccttc tgggggact taccctacct tticataaat ggacggagat ttgtatagtt 18360  
gccgtccgaa tgacctctg ataggacggc ccatacctac ctccacttcc gccgaaagca 18420  
ggigcgacgt gggattatgg ctgtctgtg acgacatgac cagtgtcaga ctggtcacaa 18480  
attgtcatt cctgtccacc acgcgtcagt ttagcaatct acatgttggc ccttcttcac 18540  
acaacatctt gcctglaatg gtiaggatga agcctggcat atatctaacc aggactaacg 18600  
tgccatctct aggaggtaac acgctagctc cagctgggga cgagcgccta gaagccctcg 18660  
tcctgacggg atggggcgag gcgtgcgtca gatcgctgt cgccacctaa cccgcgatct 18720  
gaccggctg tgactggta cagaccgat aaacgagtgc actgcacttc gttacatgcc 18780  
gcgtgacacg ctacgcaaaa ccgcaataaa tgggttagg tgagccccgc tgtgtcacc 18840  
taaccatac acgcggagca aaaaccacg aggggtcggg gcgcctcggc cctcggggcc 18900  
gaggcgggtg cgggtccgacc cctcggggg gactaagagg agggcgaaca catcacctc 18960  
gggccccgacg tccccgagg gtgccaggcc acgtgggcga ttgtgtctgc ctcaaaccctc 19020  
tagtcatgat actcctgat ccattgtacc gacagtagcc cccggcgta tgccagggcg 19080  
atcgccctct ttaagggaag cggctcggcg tgacgccact cctaaggcct ggtgacaggt 19140  
gggaccggtc tccacaattg ggcagaaacc caacggtaac aaatcacgca catcggcaat 19200  
ggtaactcta ctatcaataa tgagcggctt cttaagact gccacattac tcgagtagca 19260  
cacgaatctg gacatggcga ttctgttctgt ctggagatat ggtaacgtcg ctttgggtcg 19320  
cgagcgtaat taacgcgcgc acgatatgat ctatctcgac tgccacaacc gcataatccac 19380  
ctcatgcgcc gcaagcgggc gaatgggatt agtgggaagcg tgggcgcgag aaacgagggg 19440  
gcgaaatagt gggcgcgaga agcagaggag cgggcacagc gttggcaaga gtataaaggc 19500  
actgaggaaa ggatctgttt ccttcccttc gccatcattt ccttgtctt cgccgttgc 19560  
gccctaactc cttctttctt gtgtcttact ttccgccac gcgtcgtct tcaatcttct 19620  
cttccctcgg cgccatggca cggggctccg ctctgtctga tggtagcgtg ctgccgcctt 19680  
cccgcatcgt gagcgagagg caggctgggc tgccgcgccg ctcatgcgc gaatctgcca 19740  
ccggccggga gatagtcacg ctgggtgagg gacgcccgcc gccagactac ccggggcggt 19800  
ccgtcttctt tctccccctt gcaatggcag ggctgggttc gccattttct tcttcttca 19860  
tggatgttct gaagtcttac gatctccaga tggcgcacct caccaccaac gcggtgatga 19920  
cattggccat ctctgcgcct ctgtgcgaga tgttcatlgg ggtgcgcca tctcttcggc 19980

tgttccggig gttcttcacc gtgcagtcgg tgtcgccgcc atcggtagtt ggtggctgct 20040  
acttccagcc atgggggccc gtgctgaatc gctacatccc ctgcgccctc cgcaagaagt 20100  
gggacgacig gaagagcgac tggttctaca cccccctcgc cgacgaagcg cgccctctgac 20160  
ttccgagcca gccccggcg caggcctcca gctggcgggc gccggtagat ctgggggatg 20220  
gctatgacgc cgtccctcgc cgccctggcgg gcctacgac ccaggggctc acaggggcca 20280  
tgggtgtacgg cgactaccct cgtcgtcgga ttgcgccgtt ccagcggcgc gctcggggcg 20340  
cctgggagta caccgggicc gaagactaca tgaggacca ccagggagtc agatgggact 20400  
gggctcciga ggatttcaag atagtggctc aacgggtgct gaatctcaac tccatggagg 20460  
cgtccctcat tccccaagga atcctccctc tctgcagcga tccagaccgc gcctccatcc 20520  
tgaccattat gacggcggtc ggggcctcag aggagtgage tccaaagggc cacgacggcg 20580  
caggcgggag ccgtaggggg gatcaatcta ccccgggagg gggtcgtgct tctgggtctc 20640  
gcgacggagg cccgaggagc agccgcccctg ccgacgcccg ggggaagagg aagcagggag 20700  
gaacacctcc cccatctcct ccccgagggg gcggggcggt gcgtgccaac agcaggcgcc 20760  
cggagggggc cgcgccgaca tcgcagcccg agggggagcg caagaagaag cggtccgca 20820  
agatggggga gacagaacca tctcggggaa accttatttc ccttccaaag tggtcgttta 20880  
accgaccccc tcgcaggctc gtctctcacc catcgtggct gtattcattc tctcaacgcg 20940  
agttttcact caccatctt gtctgtcttc tggctctttc ttctgtttca gcgagatccc 21000  
gtcgcgtccc tcccgccatt ccaagtcagg ccagtcctgag gccgaggatc cggcggccgc 21060  
agaggcccgg aggcgggaat ctgaccggcg agaggccgcg gatcgccctac gggaagccga 21120  
ggaggccgcc caggaggccg cccgggctcg ccagggcgag gaaaccgctc gggaggaggc 21180  
cgcccgggccc cgccaggccg aggaagccgc tcgggaggag gccgcccag cccaccaggc 21240  
cgaggaagcc gctcgggaga aagccggatt tcgccaggac gaggcaatgg cgacttccga 21300  
ggcagctcgc gatgaggctc cgggcgcgtc gcttgagccc gcttccctcg gcgacgctca 21360  
ggcgacaact tccggggcag ctggcgacga ggctgcgggc gcgtcgcttg ggcccactcc 21420  
ctcaggcgac gcccaggacc aaccaggctt gagggacatc cccgagtcg gcacttccat 21480  
cggcggcccc agccgcgtgg catcctctcc aaggcggctc ttccccacgc cttctatcgc 21540  
cccgtgagc gcagagcccc ttctgcaggc cttggccgcc gcaaacaatc cggtgttggg 21600  
cgggcttagt gcccaggctg aggccctgca agcagagctg gcggagctcg acgccgcgtg 21660  
ggcgcgtgtc gaggaggggc ggcgctcagt ggaggccatg gtggaggctg gccgcaaggc 21720



acaccgccgg catgtctcgg agcttgaagc ccgtlaagaag gtgtttggcgg aaatcgccaa 21780  
ggaagtggag gaggagcggg gggctgccct cattgccacc agcgtgatga acgaggcgca 21840  
ggacacccctc cgcccttcaat acgggagctg ggaggcggag ctagggaana agctcgacgc 21900  
cgcccagggg gtgtttgacg ttgccgctgc ccgagaacag cgggcggggg agaccgaagc 21960  
ggcgtcccgga cggcgcgaag agacccctga ggcgcgcgcc atggcgctgg aagagcgcg 22020  
ctgcgtcgtg gagagggatc ttggcgaccg cgaggccgcc gtcactatcc gggaggcaac 22080  
actggcggcg cagagctccg cctgtgccga agaggagctc gcactccgcc tccacgagga 22140  
cgcgctcacc gagcgggagc gagctctcga ggaggccgag gccgcggcg 22200  
ggacagccctg tccctcccg aggcagcgca ggaggagcag gcgcgccga ctcctggaatg 22260  
tgtcccgccc gagaggaccg cactaaacca gcgggcccgt gacctcgagg cgcgggagaa 22320  
ggagctggac gcgaggcgcg gcagcggcgg ggcggctgcg ggcgaaaacg acttagccgc 22380  
ccgctcgtct gctgccgaac ataccatcgc cgatctgcag ggcacgctaa actcgtccgc 22440  
cggggagggtc gaggccctcc gcttggcagg cgaggtaggg cccggcatgc tttagggacgc 22500  
cgtctcccgcc ctatagtcgc ccggtcggca ggtgggcctc ttgagagggc ggaccgtaaa 22560  
gtacgccgcc aaccatggag gcctcgccca gcgctctcgc aagatggccg gggctctcca 22620  
acggctcccc gagagctcgc agaagacaat taagtcaccc tcgagggacc tcgccaagg 22680  
agcgggtggag ctctgtacgg cgagttacca ggccagggac cccaatttct ctccatggat 22740  
ggcgtctggat gagttccctc ctgggaccga ggacagcgcg cgcgcaggct cgggatgccg 22800  
ccgaccatat cgtccacagc ttcgagggtc cagccccctc gctcgcgttc gcccccaact 22860  
ccgacgagga ggacaatgcc ggtgggtcag acgacagtga cgatgaggcc ggcgaccgg 22920  
gcgtatcgga ttgatcccc aagccccgc cattcttcag tttttcttc ttttcttct 22980  
tctaaggcct tcgggcctct tttttgtata gatcaactta atctgtaac aaaaatgaag 23040  
aaatttttgt gtcaatttca tcttgcctgt tgtatgagat gaggatgatc tgtgacgtgg 23100  
tccttttgcg tcttagcttg attaagggtc cgtgcccagg tcccagtcct caaaaggcgt 23160  
gggtcggggc tagtgccctg ggagatccac atgtcgagac tggccaggcc gggaacgtgg 23220  
tgaccgaggg ttatgggtga cccgatitgt ggtttttgcc gattcccccc cggagttcac 23280  
cacgccccgg ggcacggctc ggttcttggc cccgtttggc gatttttagcc gacccgagcc 23340  
cccgagggca ggattgagca cgagtgcctt atttcaagtc aagattcttc aaaaggaaaa 23400  
aaaaacacag atacagccct taggaaatig aaactgcctt tattgaaata ctgaaataag 23460

agaaataaga atgtgcatgt gtggcagccc cgggccaacc ctgcacgccc gagggggtgc 23520  
 ggggttggcc cgagcccgaa acctgacacc cgaccccccc cctcaggggt agaagcgacg 23580  
 aaggtgttcg atgttccacg ggttaggcag ctcaatgccg tcgcccgtgg ccagccgtat 23640  
 ggagcccggc cgggggacgc cgaccactcg atacggacce tcccacattg gtgagagctt 23700  
 gctcaatcca gcacgcgttt ggacgcggcg taggacgagg tcgtcgacgc agagigatcg 23760  
 ggcccggacg tgacgcigat ggtagcgccg caggctctgc tggtagcgcg cggctctgag 23820  
 ggccgcgcgt cgccttcgct ctccaagta gtcgaggta tctctcgaa gctgatcttg 23880  
 atcagccctg cagtacatgg tggcccagg agacctcagg gtgagctcgg atgggagaac 23940  
 cgcttccgcg ccgtagacga ggaagaaagg cgtttccccg gttgctcggc ttggigtatg 24000  
 tcggtttgcc cagagcaccg ctggcaactc ctgatccat gaatcgccgt gcttcttgag 24060  
 tatgttgaag gtcttggttt taaggccttt gaggatttct gaattggcgc gctccacttg 24120  
 gccattgctt ctgggggtggg caggtagagg gaagcagagc ttgatgccca tgtcttcgca 24180  
 gtagtcgccg aagagttcac tagtgaattg ggtgccatta tccgtaataa tacggttagg 24240  
 cactccaaac cgggccgtga tgcccttaat gaatttaagt gcggagtgtt tatcgatctt 24300  
 gacgaccgga taagcctcgg gccacttagt gaacttgtcg atcgcgacat acagatactc 24360  
 aaacccgccc ggggcccgcg taaacggctc caggatactg agccccaga cagcaaatgg 24420  
 ccacgaaagt ggtatggctt gcagggcctg ggccggctga tggatttgct tggcgiggaa 24480  
 ttgacacgct ctacatcgcc ggaccaggtc gaccgcatca ttgagagctg tcggccaata 24540  
 gaaaccctgg cgaaaagctt taccaaccaa ggtgcgcgag gcggagtggg ctccgcattc 24600  
 gccitcatgg atatcggcaa gaagcacaac gccttgttcc cgaggaatgc acttcaggag 24660  
 gattccatta gccgcgcgcc gatagagggt cccttctacc agcacgtagc gtttggagat 24720  
 gcgatggacg cgttcactcc cttcgcggtc ctgggtaaa gtccttatctg tgaggatagc 24780  
 ttggatctcg gcaatccaag caatcaatct aagggagctg ggagcgctcc cctcgggtcc 24840  
 cgaggccctg acttcaacgg gcctcggggg ccggtcaggc gcgtccgtct cccctaaggg 24900  
 gtcgggtcgc gccgacggct gggcaagcct ttcttcaaag gcgcccgggtg ggggtctgggc 24960  
 tcgctgggac gcgagccgtg agagttcgtc ggcaatcatg ttatcccgtc tgggcacatg 25020  
 ccgaagctca atcccgtaaa aatggcgctc catacgccgt acttggcgca cgtaggcgctc 25080  
 catctcgggg tcagagcacc ggtactcctt acagacttgg ttaacgacca gctgggagtc 25140  
 gcctaacacc aggaggcggc ggatccccag tccagctgcc actctgagtc cggcaaggag 25200

tccctcgtac tctgccatat tgttggtcgc tcgaaagtcg aggcggacca agtatctgag 25260  
gacgtctccg ctccggagagg tcaacgtgac ccccgccaccg gcgcccctgaa gagacaggga 25320  
gccgtcgaac tgcattaccc agtgggcggt gtgaggcagc tgcgaggggt ccgtgctggc 25380  
ctcgggggatt gagacgggct cgggagccgg ggtccactct gccacaaaat cggcgagagc 25440  
ctggctcttg atagcgtggc gtgggtcaaa gtgcaaatcg aactcagaaa gttcgattgc 25500  
ccatttcacc acccgctcctg taccgtctcg attatgcaag atttgaccga gggggtaaga 25560  
cgtaaccaca gtgacccgat gcgcctggaa ataatggcgc agtttcctcg aggccatcag 25620  
aatagcgtaa agcatcttct gggcctgagg gtatcgggtt ttggcgctcc ggagggcctc 25680  
actaacaag tagacgggcc gctgcacctt tcggctggggc cgatcctctt cgctaggggc 25740  
cgcatccctg gggcactctt cgtccaagca gccctgcggg gcgcacttgt ctctgtgtct 25800  
gatgacctcg gggctcgagg ataacagggg cggccttccc acagtggctt tggggccgtc 25860  
ctgggggtca ggggctcctg gcgtcgtcgg acaagcgggc aaagggccaa ctccggtcgt 25920  
caggggcctt aggcctccgt tcggctcggg ggctcttct cctgctctt tcccgggtcg 25980  
agtcagcaca gggttagcct cgggggtcaaa gggcgatagg tgcggccttc ccacagtggc 26040  
ctcagggcct tcctgggggt cgggggctcc tagcacctc tgacaagcgg gcagagggcc 26100  
aactccgtc gtccgggggc tcggggccacc gtccggctcg ggggcctctc ctccctgctc 26160  
tctcccgggc caagtcggca cagggtgggg aagcgcgaaa tgagaattgt cctcatcgcg 26220  
ctccacaacc aatgccgcac taactacttg cggggctcgc gctaagtaga gttagcaagg 26280  
ctcgtctggc tcgggggcga ccagaactgg gggagagctt agatacgct tcaactgggt 26340  
gagggcattt tcagcttctt tcgtccaggt aaacggtccg gagcgtttga gaagcttaaa 26400  
taagggtaac gccttctctc ccagcctcga tatgaaccga cttagggcgg catgcaacc 26460  
ggtgacgtat tgcacatccc taagtttgc gggggggcgc atccgtctta tagcccgtat 26520  
cttctcgggg ttggcctcaa tgccccgggc agagaccaag aacccgagaa gcttgccgc 26580  
aggtacaccg aacacacact tatcggggtt taattttatg cgggcggagc ggagactctc 26640  
aaaagtittc gctagatcta tgagtaacgt ttcttggttg cgcgtcttta caaccaagtc 26700  
atcgacataa gcttcaatat tacgtcccaa ttggctaccc aaagaaattc gagtagtacg 26760  
ttgaaaagta ggacctgcat tctttaaccc gaagggcatt gtcgtataac aataggttcc 26820  
tatgggggtat atgaacgcag ttttttctc atccctcccta gccatgcgaa tctgatggia 26880  
accagagtat gcatctagaa aacacaaaag gtcgcacccc gcagtggagt cgacaatctg 26940

atctatgcga ggcagggggt aaggatcctt aggacatgcc ttgttaaggt cggtagtagtc 27000  
gaigcacatc cgaagcttgc cgttcgcctt gggaacgacc accgggttcg ctagccactc 27060  
ggcgggggttg acgctgccat cataatititc ggcgatgggt ggccggaacc ttggggggcca 27120  
acggacattc cgaagactcg ccacaaaggc tctacagccg acaccaccaa ccggggggcac 27180  
ggagggciga ttcccgcgic cgtgttgagg tgacactctg gacgaggaag cgccctccgt 27240  
tgcgtgggca gcacttcggt cattacgccg gcgctcgatg ctggtagcggg cgtccggccc 27300  
cccacgcaga tctttctggg tcgaaggagt cgacgaagga gtggcggccg aatggcgaac 27360  
agcggctgcc gctcgtcgtg cctccgtctt tgacgacgcg gagccggtgg tagcagcacc 27420  
agaggccctg gtggcggagg accgcccacc agcatctagg cgctgccgta ccgcatgac 27480  
taatttggcc acgtcgtcca gccatcgttg ggctggagac tccgggtcag ggacgacagg 27540  
cgggtgacgt aagagcgcgc ccgcagcttg gagcgcgccc tggggcgtgc tgcgctgcc 27600  
gtagacgagg aggcgacgt ccccatctcg ccgttcttct ccatcgcccg cgatcggtga 27660  
agtcgcggat ctttcgacct tctcgagcgc ctccccccgc ttaggacttt ggctggagg 27720  
gagcgggtga gtacgagctc gacggcgttg gttagcctcc ccgtcgtcgc cactcacact 27780  
cggagagagg tcgtgcgcct ttgcttgctc ggccatcagg ctgaacagga aaagcttggc 27840  
gcacacggaa gactacgaga gctcagaaaa acacacactg agtcccctac ctggcgcgcc 27900  
agatgacgga gcgtggggct cctcaccggg agaccgcgca ggccccctt tgcgggttcg 27960  
gccggggact cagggtgaaa ttctaagctc tctgtatgtg gaaggttcgc gaccgtcgaa 28020  
agagcataag acacgggcga tgtatacagg ttccggccgc tgagaagcgt aataccctac 28080  
tcctgtgttt tgggggggac tgtgtatgaa ggagctacaa agtatgagcc agcctctccc 28140  
ttgttctggg ttccgaatct ggaaaagtcc agtccagtc cccctctaa gtgggcaagg 28200  
tcctcccttt atatcttaag gggataccac atgcaccatc tccctcttt ctgtggggac 28260  
ttaccctacc ttttcataaa tggacggaga ttgtatagt tgcggtccga atgaccttct 28320  
gataggacgg cccataccta cctccacttc cgccgaaagc aggtgcgacg tgggattatg 28380  
gctgtctgct gacgacatga ccagtgtcag actggtcaca aattgctcat tcctgtccac 28440  
cacgcgtcag ttiagcaatc tacatgttgg ccttcttca cacaacatct tgcctgtaat 28500  
ggttaggatg aagcctggca tatactaac caggactaac gtgccatctc taggaggtaa 28560  
cacgctagct ccagctgggg acgagcgctt agaagccctc gtcctgacgg gatggggcga 28620  
ggcgtgcgic agatcgccig tcgccacctt acccgcgatc tgaccggtct gtgactggtc 28680

acagaccgga taaacgagtg cacigcacit cgttacatgc ggcgtgacac gctcagccaa 28740  
accgcaataa atgtgggttag gtgagccccg ctgtgtctac ctaaccata caccgaggagc 28800  
aaaaaccac gaggggtcgg ggcgccctcg cctcgggggc cgaggcgggt gcggctccgac 28860  
ccccctgggg ggactaagag gagggcgaac acatcacctt cgggccccgac gtcccccgag 28920  
ggtgccaggc cacgtgggcg attgtgtctg cctcaaacct ctagtcatga tactcctgat 28980  
cccatgtcat cgacaaggcc atccgaatgt attaaggagt aaaagttaca agaaaaaaca 29040  
ccacaatgca ccaagggtgca tgaccacaca ccatacacta cccccaagca caaaccactg 29100  
agggtgaagc ctagcaccaa acgaccgcca ctaagtgtga ccaaacgccg ctaggcctac 29160  
ggcagcaaca catagatgag acttcgaaaa cgatgccacc aaggigtgtca cgacatgtag 29220  
gatgtctgca tcttccatct aaaaagatgt ggttttcacc cagagaaact catcaagaag 29280  
gggagagggt aaccttgac agcgcccaa ggagggtacg acgcccgaag gcgtagccgc 29340  
tgccggtccg gtgaaccacc ggactaggct tccgcctagg acctatagc ctigtatgca 29400  
gatcacgcgc caccactcag aaccaccaca cagacaaaag gtagcacgta gcttccaccg 29460  
caccgcaccg acgccccctt gtcggccgac tccatcgaac caccatccct gagagctggc 29520  
ccaggacccc tccgttccac caccgcgcgg ccgccttgcc agttttggcc aaaggagaac 29580  
ccgggactgg gtgacattgc ttcggcagcc tgagcttccc ccgctggcga gctgtgtct 29640  
caatccaacc tagaaactcc ccgcaaaaga aggggatgag ctctaggaag ggcgagggtg 29700  
ccgaccggca acgaggaaga caaccatcg actccagctc cttttgact accatctggg 29760  
cctgcgcaa tgccggatac gctgtctctc cggtccggc gccaccacc tgcacccct 29820  
ttgcctgggt tccgcgcccc tccctggctg gtcgcgccc ccagctggcc gctaagggca 29880  
ccacgacggc cgccccgcta ccgaggcctg gccgcgccat gggacagctc gcgctggcac 29940  
cagcgagcca cgcccgctgc gctgttgccg gcgccagcga gcacaaccgc cagctccaag 30000  
ggccgagcat gccactgagc cgccgcgcct gccgcccggg ccggctgcac gtcaccggcg 30060  
cacacgaccg caccgcgcca cgctccgctt ccgcgcccga ggcagcccca tgccattgcc 30120  
gcgcacctcg cccgcccgtt gccgagccgc caccgcgcac ctgtctgagc cgccaccgcc 30180  
gtccctagcc gccctgtgcc gccgccacgc cagatccagg cgcgggatgg ccggatccgg 30240  
ccttgggggc gccggatccg ccgcctcccc acaccgccac ggcgtcacca cctccgaccg 30300  
cagtgagggc ttcgtcgttt gcccacatct catcgctcg aggaggaaga cgccaagaaa 30360  
aaagggcctc gccgtgcct tccctgtctg ctgccggctt cgccgcccgc gagctccggc 30420

ggcggcgagg tgggggagaa gaagtgggga gtgggcagct aggggttttt cgcccccaa 30480  
gccgcccgtg cgagagcgac ggtggggggg gggggacitt ccaacctctt ccagtgttct 30540  
agttctccac gttatgtaac tcaatttgtt taaccataga aagtaagaaa cctaccagcg 30600  
tgttaagctc tctttcattc cttttcttct tcttggtttt gcttccatca catgtcaagt 30660  
gaagggttct taactacat tactcctaca catctaattt tttctcaga tctttcgcag 30720  
gtatataatg atgtacatt ttatgatctt aagataatct cttcacatt acctctgct 30780  
gaaactttag ctgtaaccgt catcttcacc acaatttgag cccaatttgc acagagcaca 30840  
acgagcaata gcttgcctt acgttcatta tttagcatga actactacta actaccaag 30900  
aatcaataca ccggtttaat aacgccattt tatcacgtta atatagttt cattcaacac 30960  
accggttttg gcacagtgc aaacttgcaa taaattcttt cctacttctc catcccataa 31020  
tataacaaat tggatgtct cgtctggtac taagtigcta tattatgaga tggagggagc 31080  
acttcttttc ttccaaaata taagaatata gtattggatt agatattatc tagattcacg 31140  
aattcgatta ggttgcttag atttatagtt gtatgtaatg tataattcgg taataggtta 31200  
ttacctctcg ggaaggagg agtagtttg actttttttt ttcttataaa tcgctttgat 31260  
ttttatatta gtcaaatitt atcgagtta actaagtta tagaaaaaa ttagcaacat 31320  
ttaagcacca cactagtctc attaaattta gcatggaata tttttgata atatatgtt 31380  
tctgtgttaa aaatgtgct atatttttct ataaacgtag tcaaatttaa ataagttaga 31440  
ctaaaaaaa tcaaacgac ttataatatg aaatggagga agtagtagac tataacaaat 31500  
ttaaacctg ctttgatttt agagcatcac taatatgtta gcaataatct atccctaaaa 31560  
ttttttttt ttcttaaaact gaaaatagga agtggaata ctctccatc taagagagag 31620  
cctaaattca ataaaaaact aaaaaactaa aggtggatcc ctctattaaa ctaccgcaa 31680  
aaatttatgt ttttttctc ttccacgcgc gcagaacaga tatctcgatc aagttagcat 31740  
gtaaaatitt taaagagata ccttatacga ctcttccgt atttccaaaa gcaaacggat 31800  
ttaaaatctg actcaaataa agatctatat atccaattta catgacacat gtttcgccga 31860  
atttttatat taataataat taatatittt aaaattaaat tattagcaat ttgtttggag 31920  
gatttatcaa aacaggatgg acgttgttta taacagcgtc tagacctaga cgcgttgca 31980  
aactgcggcc acctttttat cacacaaatt ttgacaatt tgacacttc caaaaattaa 32040  
ttttataaat taaccgtgac caaaacttat ttaaaaataa tctttttgtt gagcgcaaaa 32100  
tcgtataact cagegccaaa tagcacggcg ccgacctccc ctttccctc cctctatcc 32160

tccactgcig ccgcccacct ctccgtatca gctgcgtcgc gttgggtttcc gccggcgctg 32220  
cigctgcigc accagtcgcg tagggcgggc gggcatggcg cgccgcgcgc cttcccgcgt 32280  
ccgcgccggc gctgttggcg cccctcgctc ggagggctcg acccaagggc gagggggccg 32340  
cacggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccggcgtagg 32400  
caggggcgcc tcgatctacg gcttgaactg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtcacagccc 32460  
cgcgggcgcc gtgtcccgct acaaccgcgt ggcccgagcc ggcgcccagc aggttaactcc 32520  
caacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttccctgcigc tgcgcggggc gcttggacct 32580  
cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgccctt 32640  
cactcctctg ctcaagggcc tctgtgctga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 32700  
gtcccgcaga atgaccagc ttggctgcgt accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 32760  
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctcc aaatgatgcc 32820  
tgatgatgga ggtgactgcc cacctgatgt ggtgtcgtat accactgtca tcaatggctt 32880  
cttcaaggag ggggatctgg acaaagctta cggtacatac catgaaatgc tggaccgggg 32940  
gattttacca aatgttgtta cctacagctc tatlattgct gcgttatgca aggtcaagc 33000  
tatggacaaa gccatggagg tacttaccag catgggttaag aatgggtgtca tgcctaattg 33060  
caggacgtat aatagtatcg tgcattgggt ttgctcttca gggcagccga aagaggctat 33120  
tggatttctc aaaaagatgc acagtgatgg tgtcgaacca gatgttgtta cttataactc 33180  
gctcatggat tatctttgca agaacggaag atgcacggaa gctagaaaga tgttcgattc 33240  
tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc ttcaggggtta 33300  
tgctaccaaaa ggagcccttg ttgagatgca tggctctctg gatttgatgg tacgaaacgg 33360  
tatccacctt aatcattatg ttttcagcat tctaatatgt gcatacgcta aacaagggaa 33420  
agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga atccggatac 33480  
agtgacctat ggaacagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag aagatgctat 33540  
gcgttatttt gagcagatga tcgatgaaag actaagccct ggcaacattg tttataactc 33600  
cctaattcat agtctctgta tctttgacaa atgggacaag gctaaagagt taattcttga 33660  
aatgttggat cgaggcatct gtctggacac tattttcttt aattcaataa ttgacagtca 33720  
ttgcaaagaa gggaggggta tagaatctga aaaactcttt gacctgatgg tacgtattgg 33780  
tgtgaagccc gatacattta cgtacagtac tctcatcgat ggatattgct tggcaggtaa 33840  
gatggatgaa gcaacgaagt tacttgccag catggcttca gttggaatga aacctgattg 33900

tgttacatat aatactttga ttaatggcta ctgtaaaatt agcaggatgg aagatgcgtt 33960  
 agttcttttt agggagatgg agagcagtgg tgtagtcct gatattatta cgtataatat 34020  
 aattctgcaa ggttttattc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac tctatgtcgg 34080  
 gattaccgaa agtggaacgc agcttgaact tagcacatac aacataatcc ttcattgggt 34140  
 ttgcaaaaac aatctcactg acgaggcact tcgaatgttt cagaacctat gtttgacgga 34200  
 ttacacgtg gagactagga cttttaacat tatgattggt gcattgctta aagttggcag 34260  
 aaatgatgaa gccaaaggatt tgtttgcagc tctctcggct aacggtttag tgccagatgt 34320  
 taggacctac agtttaatgg cagaaaatct tatagagcag gggttgctag aagaattgga 34380  
 tgatctatit ctttcaatgg aggagaatgg ctgtactgcc aactcccgca tgctaaattc 34440  
 cattgttagg aaactgttac agaggggtga tataaccagg gctggcactt acctgttcat 34500  
 gattgatgag aagcacttct cctcgaagc atccactgct tccttgtttt tagatctttt 34560  
 gtctggggga aaatatcaag aatatcatag gtttctccct gaaaaataa agtccittat 34620  
 agaatctttg agctgctgaa gccttttgca gctttgaaat tctgtgttgg agttcttttc 34680  
 tcctacagtt gtattagagg agggatcttc tctttatgtg taaatagcga ggtatgtatg 34740  
 tcacctctcc gaattatitit tactctgggt cctagacggt aaacaagcaa ttatgttctg 34800  
 cctttgatgc cagaaaaaac acaaaagtgt gtctgtatct ctactaacgg atcataaagg 34860  
 aatttgtaac tggagtttca aacttaattt gtctaggcag tagttttggc attagatcca 34920  
 acattgtgta ggattcattt gtgtgtatca atctataggg tticattaaa ttctgttaat 34980  
 gtgtactgtt taggtgttga atagtgtgac ttgtttttta actgaacaaa agatactgaa 35040  
 atcgttccat tcaacaaaca catgttccgt taatgaaatt atgttacgtt accttttgtt 35100  
 ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttggtacaac aaattattga 35160  
 ttcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attggtgcag ctgctcttct 35220  
 attcattttg tgaagtgtg tgagtacctc tcaatcccat ccttatgctt ctgtgcatgc 35280  
 ttcatcccaa ttttttacgc atatcgattg ttttctttta tataacagtc cataaagata 35340  
 atcacatcat gacaaagtta ttattttcta cagtatagtt atataagtat tcaccagttt 35400  
 tccatgaata ttttggcatg tgattacaaa gaagattatt tgagaaaatc catgctttta 35460  
 ttctatcttt ttgtttgaag ttgaacttta atttatggtg taaatttcag ttattattgc 35520  
 tagcagctcg tactctttta ttgtataact tcacttgtgc ttattctcca atatctccct 35580  
 tcttgttgtt caggttcaag aaaatcattt gttggattca gaatctggtg tccattttct 35640



tcttaaatta ttaaatectc cagtgaatct tgttgattcc aaagcaccaat cgataggttc 35700  
caaaacttctt ggaatcagta aagticaaat gcttaatgga tcaaataagg attctgactg 35760  
catttcagag gaaatccitt caaaagtiga agagattctc ttaagctgtc aagtgatcaa 35820  
gtcgtctgac aaagatgaca agaaaacaac aaggccagaa ctgtgtccaa agtggcttgc 35880  
tttgttgaca atggaaaatg catgcttgtc tgcgttttca gtagagggtta agttttaatc 35940  
aaatttcttg gtcatgattt cccittatga ccattatatt tattttataig agccaaataa 36000  
gcagttgtca acttgtcata agttacatag cacctatttg caataattcat gggitggtttg 36060  
cttagccctt ttcttcacct gcttttgatt gatgacttcc atctgtgttg cagaattgaa 36120  
ttggagtagt ggactgcact agaagcacct atggccattg tcatactagg aaggttttcc 36180  
cttatcaaat atttgatgtt tacagagact tctgacacag tgtccagagt tggaggaaat 36240  
tttaaagaga cattaaggga gatgggaggt ctlgatagta tttttgacgt tatgggtggat 36300  
tttcattcaa cattggaggt gagatctcgc taacatcgca tattttacat ttccittgtt 36360  
caactctaatt ggattgtgca ggcttgttcc ttttcgccat tttagcttta atgtgcttga 36420  
agccacatga aagtaatgct tgtccagata catagccaaa ggttgttata ttttggggca 36480  
tggaaaatgc ttgaggtagt aactattttc atcaggacat ggaaaattgg ctgcaacaca 36540  
aattatgttg ttttatgttg caaaaatagt tttttaatac ttttttattc tgcatgtggt 36600  
gttagtatct tacagttcct ctgatgatta tatccccac gataataaca ctigaaacga 36660  
taataacact tgacatatct acaccaagtg aacattattc atttggatgt tacttttcca 36720  
gctatacttg ctgttcttgc atgtgtaagc aagtittggag taaattgcgc attaatltaa 36780  
atgcttggtg ttcttatctg tgtacttttt attccccaac taataatgca atcatattac 36840  
gctgataaac tgaataaata aattaacaat atacttctgg tggcaaacct tgtgtatcag 36900  
aatctcataa aggatacatc cacttcagct ttggaccgaa atgaaggaa atctttgcaa 36960  
agtgtctgtc tctcttga aatgtttgaaa atattggaaa atgcatatt tctaagcgat 37020  
gataacaagg taatgtcct tataatgttct gtttcagttt agtaccatt ttcttcttct 37080  
gtactatctt ctctctgat ttgttctgtg caaaatgtgc aaacagtgcg acttigtatg 37140  
tctgcctaac aattttcttt tcttcttgaa aaagcaatat gaactcttac attcattttg 37200  
cttcttgcag acccatttgc ttaataigag tagaaaattg aaccgaaac gctccttgc 37260  
ttcttttgtt ggtgtcatta tcaatactat tgagttatta tcaggtattt ttcttaataa 37320  
tacaatgtgt tgcctaacac aataaaatgt tttaaacatc cagtaigtta aagtigcagt 37380

ctgacgccta ttttgltttg ctgcagctct ttcaatactt cagaattctt ctgttgtttc 37440  
cagctctaca tatccgaaat cgtctaaagt ctctcaacag agttactctg gtaataacaa 37500  
acaccaatit tgtttgatca gttgatctcg ttggcttttc tatgcactgt ctcaatatag 37560  
tttggtcgcc attcaagctt cactacagat gttgaacttg gccigacacc aaatatitit 37620  
aaaatgctac ctgatatitit taatatitca tgtttcctga cccagattat cttgttggtt 37680  
cctcgtataa gtttaattag tgacattctt gaagctttgt tatgcagcag atgtcatggg 37740  
gggaacttca tttaatgatg gaaagagcaa gaactcgaaa aaaaaaaact tttgtcgaac 37800  
cagacacgtc attgttgctt atcttcaaaa tcagaagttt ctcatattac tatacttctt 37860  
ggtagtgatg ctggctctgc acagaaggca ttcaattgtt ctccattit 37920  
ggggcatcaa gtgggtcatt aggcgagagg cacagcaatg gtagtggttt gaagtigaat 37980  
ataaaaaagg atcgtggcaa tgcaaatcca attagaggct caactggatg gatttcaata 38040  
agagcgcaca gtctgatgg gaactccaga gaaatggcaa aaagactccg tctatcttaa 38100  
aatgtaatca ccgacagtgg tgggtggatg gaccttttg catttgaccg ccgcgtcggc 38160  
gtcgccacca cgtaatcgcc cactcgtcg ccccgctgc cactcgtcg accgcgcacg 38220  
gtaatcacac gcactctcag gccgccgcta gctgatatct tctcatccgg ttgatttgtg 38280  
atititggcgt tttitgcagt gtgatggcgg ggggcgaccg tggccgaggc gtggagtgcc 38340  
atccgcatca ggggtgtatcg gccgcgtgc tccgccctgg tccgcaggct ttggcggcga 38400  
gttggcggcg gagggagact gtggtagat cggatttcgc cgttgggtgt gtctctacca 38460  
tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct tccctttttt 38520  
atititititit ctgcaaaaat gtgttgtgat gtctgtctcg ctgggcaggc ctcatagcca 38580  
ttaatgtagt ttgtctggaac atttacattt ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat 38640  
gttgaattgt ggaggggaga aaaatcattt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctcta 38700  
atititaaaac tgaagggtgt gaaatcaaac ataatcattg ccagcgcata attcttgtta 38760  
accacatga tatattgttg gttataacag ttagctccac accaaccttg aagggtgcaa 38820  
tagaatgttt agtataaatt gaggagaaca ggcagtgttt aagactttct aaagaacttg 38880  
tagcagctaa tactagctat tgtgcatttg tgtttcatgg aatttgagca gcaatggata 38940  
tttcttacta agatgtatga tgcaaaaaca aaaactatgt ctatacagtt tacatglaat 39000  
gtgcggatgc aaataaaaac atgtacatgg acaaactcat gggattcata ccgaattcca 39060  
gaattgcatt tcttatgttg ttacttttgt tgttgatttg gttaccagac atcgatgtga 39120

tttcaagggt cagaggggtt tgcctctacg cggtaggtgc agttgcagca atctttttgt 39180  
ttgtcgccat ggttgtggtt catccacttg tgcctctatt tgaccgatac cggaggagag 39240  
ttcaggaaaa aaatttgaaa ataccatttt tttagaaaag atttacgttt atatacacta 39300  
gtatgaagaa tttagcaaaa tataactaat ccgcagatcg gttatgcggg agcgcaacaa 39360  
aagtatggcg tggcggcgcg gaggtagcgg ccgaggcggt cgcgcggaat ggggctgcgg 39420  
gaccgagcca gtctcgcttg ccggtaacgc ggaaccggta cgctcccga cgcgccagtgt 39480  
gcggaaccgc ggcgccaaca tttttttact gcatggcact gtgtttaata ctgtttgaca 39540  
ctgtttctgg tactgtttta cacagtccc gggtagcttc cgcacaatgg aggcgcgga 39600  
ccgaccatga acaatgtgtg aacagtgtg cacagggtta aaacagtgt taaactgcgc 39660  
tgcacagtgc tggagtcgct ggccactgcg gtcccgcggt ttggaaccgc gggaccgtcg 39720  
cgattccgcg ttttggagct gccggacat gacgggtccg cgcaggatcg tcggtcccg 39780  
atittgaatc tgcggaaccg tcgctgtccc gcgtttccgt ttgcgggat gcgtatattt 39840  
ttataaaacc tctccatgca tgtatataaa cataaattat tgaaaaata agtatatttg 39900  
caaatTTTT tgcagagctc agcactacat tgcaaagatt tgggcaactc tgacaatttc 39960  
catgttctac aagcttgacg tcgagggaat ggagaacctg ccaccgaata gtagccctgc 40020  
tatctatgtt gcgaaccatc agagtttttt ggatatctat acccttctaa ctctaggaag 40080  
gtgtttcaag ttataagca agacaagtat atttatgttc cgaattattt gatgggcaat 40140  
gtatctctta ggagtaattc ctttgcggcg taaggacagc aggagccagc tggtaggtct 40200  
gtagtctcat cctgtctttc ttaagtagac atataigcaa ttacagaatt tggtaaacaa 40260  
acaagatttt atgaatcata tatgattttg gggaaaacac caaactctct ttggtggctg 40320  
ccttgaacat agttctattc acacagtta agcaccttct ttaaaatgaa gaactttgtt 40380  
gcatacacat atggccaaac cacataatga attttgttta ttctatctt tgaatgttag 40440  
caccttattt tcatgcatat catgctaatt tgcctgccc cgttaggtgg gaattttttt 40500  
ccatgtttta taatttatai atgttctaga ctctagctc acaatttate tacttcatgt 40560  
tcctgagcct ctagtatggc tggtagcaga ctaggtgtgt agtgcgtctc atttttgcag 40620  
actgaagaga ggagaaatac aggactgtcc gtgtgtagtc agatttgtaa aaatagactc 40680  
tgatgtagtt tatttttagcc cctattttat atttaacaat acaaataat aacgtatcct 40740  
aagaacttat cgtaatttag gagaagttgc tcgtttcatt aaattaaact gtgaagtaaa 40800  
aatgtgtgct cgagtcgtc aatgcaatcc tgtgttcttg tttagaata tgggttaggg 40860

caggctagga tcgaacacig aatggtaaga ctgcctctgc ctccatttgt gcacttgggtg 40920  
ctgccacgcc gattaagcag tagaacaaag taattttgtc gtgcacaaat gagttatatt 40980  
tcattgaaaa tcgaagtga aatgaaccaa aagatagaag aaaaggggaa acttggtaat 41040  
tatatactcc acaaatttat tggtaagatt tgatattaga cgctcgattt ctiggcttaa 41100  
gttaaggata tcaaatttgg ggaagcacca aaggaattat tgtgaaggag ttgtgggtgc 41160  
ataacgttat ctactagggt caaatcctag tgaciatgaa tattaatgag taaggtaagg 41220  
gattttattgt taattttagt ttctttaaga ttgtgtccgg gtacaccatt cggttaagtgt 41280  
aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgatttacct ttccatttgt 41340  
ttctgcgttc tgggtatgaa tttagcgaga ttccatggtc agctcaacat atcagttact 41400  
gcgtgticaag cgatcttata tggatgctgc acaagcgatt gtatacggat atgacagtat 41460  
aacgtgtgat attgatacga tgttcccttc ctttataaag gaacaaagac ttttttaaaa 41520  
aaaagaaggg gtattactaa aaacaaaaat gtcaaaaaca aaatatcagt gcacatggca 41580  
agtgtgcacg agcaatagct tgcctttacg ttccattatt agcatgtact actactaact 41640  
acgcaaaaaat caattcacgg attattaaac tgttaacatc attttagcac gttaacatat 41700  
gtttcattca acacaccggt tttaggcacat ttacaaactt gcaaagttgc aatactccct 41760  
tcgttacata gcataagaga ttttaggtga atgtgacaca tctatccaaa ttccattatac 41820  
tagaatgtat caccgccctc acgccgggag ggagagcgcc gccggtggag aaagggggag 41880  
ggagtggctc aggggaacca gtaggggtgc ctccccgtcg ccgcctcccc gtggccgcgc 41940  
cggcgagaca ggaggaagag ggggatatgg agcggcgccg ccggtgaggg cgcgcgcgcg 42000  
ggggggagcg gcgacgccgg tgaggaaggg aaggggagtg gtggctttga gagagatagg 42060  
ggggaggaaa aatgatitaa gagttagggt ttgggctgct gagtttttat atagatcggg 42120  
atcaatcagg accgtccatc agatcggaca actacggctt ctcccgcgtt gggccgggtg 42180  
ccactcctag gttgcccaca ctattgggcc acatgtacgc tccgcgtgaa ataagttcac 42240  
tttaggtcct ttaagttgcc tctgaattgt tcccaggccg gccgcactat tgggccaccc 42300  
cataggccat gtgtacgctc cgcacagaat aatttcgctt tagctccctt aatttgtccc 42360  
ctcaaactcc taaaaccagt gcaaactctt aatttttagt tcacccattg caactcacgg 42420  
gcataatttg tagtgacata taatatgaaa cgaaggatgt agcagactat agaattttaa 42480  
ctgtgccttc attttagagc atcaciaact gttattitaa tttttattta aataaatgct 42540  
gaaatgatgt ttttattatg aaaattagca ataaagctcc caaaatttca aaaaaaaatt 42600

aaaagagatt tattaatcat ggttaattta attaaaaatt aaatctaacc atatcatatt 42660  
atttcacggt ccgtgatgag gaaatggcag ctgctatcac ttacgggtggg agagaagggg 42720  
cattgtttat ttttataact atctcttata actcccatga aactataaaa taaatataat 42780  
cattatcata acattagttt tttttccatt gcaacgcaag ggtaattttt cagtacaata 42840  
aaaaaaataa aagtgggcca ttctgaacgg aaatttctgg ttttttttcc caagagcgcc 42900  
gcacacaact gcgcaagaga tcgatcgca tcacccctgt cgtcgccgat ctccctacacc 42960  
atccctgcc a tctccttccc ctccactggc tgcctgtgca cctgtcagct agggcgggca 43020  
tggcgcgccc cgccgcttcc cgcgcgtgtg gcgccccttc ctcggagggc tcgatccaag 43080  
ggcgaggggg ccgcgcgggg ggcagtggcg gtggcgcgga ggacgcacgc cacgigtctg 43140  
acgaattgct ccgtcgtggc ataccagatg tcttctccta caatattctt ctcaacgggc 43200  
tgttgtatga gaacagaagc caagaagctc tcgagttact gcacataatg gctgatgatg 43260  
gaggtagctg cccacctgat gtgggtgtgt acagcacctg calcaatggc ttcttcaagg 43320  
agggggatct ggacaaaatg ctgaccaga ggatttcgcc aaatgttgtg acctacaact 43380  
ctattatitg tgcgctatgc aaggctcaaa ctgtggacaa ggccatggag gtacttacca 43440  
ccatgggtta gagtgggtgt atgcctgatt gcatgacata taatagtatt gtgcatgggt 43500  
tttgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttgtatttct caaaaagatg cgcagtgatg 43560  
gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa 43620  
gatgcacgga agcaagaaag atttitgatt ctatgaccaa gaggggccta aagcctgata 43680  
ttactacct a tggtaacctg cttcaggggt atgtaccaa aggagccctt gttgagatgc 43740  
atggctctct ggatttgatg gtacgaaacg gtatccacce taatcattat gttttcagca 43800  
ttctagtatg tgcatacgct aaacaagaga aagtagaaga ggcaatgctt gtattcagca 43860  
aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtigaccta tggaacagtt atagatgtac 43920  
tttgcaagtc aggtagagta gaagatgcta tgctttattt tgagcagatg atcgatgaag 43980  
gactaagacc tgacagcatt gtttataact ccctaattca tagtctctgt atctttgaca 44040  
aatgggagaa ggctgaagag ttatttcttg aaatgttgga tcgaggcatc tgtcttagca 44100  
ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg 44160  
gaaaactctt tgacttgatg gtacgaattg gtgtgaagcc cgatatcatt acccttggca 44220  
ggtaagatgg atgaagcaat gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gtigaaacct 44280  
aatactgtta cttatagcac tttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 44340

gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgtta gtcctgatat tattacgtat 44400  
aacataattc tgcaagggtt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 44460  
gtcaggatta ccgaaagtgg aatgcagatt gaactttgtt agattttaatt ggataattaa 44520  
tccattttaaa tcaattaaat caaataaatt ccaaggctca ttatgctagg aattcatgtg 44580  
aattcatict tctatgggat atcaatggga tgaagagttt tgagaattaa tccatttgat 44640  
taaggaattg gtaacttata tcaattaatc ctaattgatg gatggttgat ggttgtgtag 44700  
tggaggatgg ttcatggcta gttgatgaca attagttgct ctattcctct tcctattcca 44760  
ttggtaactt acatcaatta ctcttaattg attgttgggt gatggttgtg tagtggagga 44820  
tggttcatgg ctagttgatg acaattagtt gctccattcc tcttcctatt ccatgactct 44880  
tactcttcat ctccattcc tcttataaaa tgagaatgga ttgatctcc cgcgagaaga 44940  
agaagacaca ctttcatcca ttttcaaaag ctgttgtctg tacggtaatc ccatcccgac 45000  
gagtgtgtgc acacgcgttg ggagagtagg cctccgaaac cacgcgttgc tgcgacgttt 45060  
gcacagacgg gcgggcgatc aggttttttg ggagcgcaag gcgcgactac tcactgttcg 45120  
tcaacatcta ctcatcttc accaacaatgt cgaacactgg agacaaggag aaggagactc 45180  
ccgtcaacac caacggaggc aatactgcct caaactccag cggaggacca ttcttgggggt 45240  
ataaccttat tacattatit caattagaag ttttactgtt aatgttcac gcaatgtcaa 45300  
catttgttca ttatgtgatt gttgatgctt attcaacgtt aagcatgctc atgttgatta 45360  
cattcaccac tatcactgga tcaaatccta ttgtaaatat catgtttatt atcttgttat 45420  
tttggattaa aatatgccga attatgacca aatttccaac aaacttagca cataacaat 45480  
aatccitcat ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcgaa tgtttcagaa 45540  
cctatgtttg atggatttga agcttgaggc taggacttcc aacattatga ttgatgcatt 45600  
gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa ggatttgttt gttgctttct cgtctaacgg 45660  
tttagtgccg aattattgga cgtacagatt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt 45720  
gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc 45780  
tggcatgcta aatttcatig ttagggaact gttgcagaga ggtgagataa ccagggtcgg 45840  
cacttacctt tccatgatig atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttccctt 45900  
gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat catatatctc tccctgaaaa 45960  
atacaagtc tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt 46020  
gttggaaatc ttttctccia cagtccgatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat 46080

agcgaggat gtatgtcacc tctccgaatt attttgactg tggttcctgg actgtaaaca 46140  
agctattatc ttctggigtg gatgccagaa aaaacacaaa agtttgtcgt tatctctact 46200  
aacggatcat aaaggggttt gtaactggag ttccaacttt aaggatatcta ggcagtaggt 46260  
atataattgat cctacatctt atgatcttaa gatgataatc ttctcattat cctctgctga 46320  
aacttttagct tgaaccgtca tctacaccac aatttgagcc ccttagcaca gagcacaacg 46380  
agcaatagct tgcctttagc ttcatatttt agcatgcact actactaact acccaataat 46440  
caatacatcg gttatttaaac tgtttgtaca gtttaataat gtcattttat cacgttaaca 46500  
tatgtttcat tcaacaccac accggttttg gcacagttagc aaacttgcaa taacattttt 46560  
actacttctc cgccccataa tataacaatc tcgttccata ctatattgct atattacggg 46620  
acggatgaag tacttcttct cttccaaaat ataagaatct agtcctagat tagatattat 46680  
ttggattcac gaatttgatt aggctatcta gattttagt cgtatgtaat gtcctaattcg 46740  
gtaatagggt attacctctt tggatggagg gagtagtttt tatttcgtac tccctctgtt 46800  
tcatattata agttgttttg acttttttct tagtcaaatt ttattgagtt tgactaaatt 46860  
tatagaaaaa aaattagcaa catttaagca ccacattagt ttcatlaaat gtagcatgga 46920  
atataatttt ataatatgtt tgttttttta ttaaaatgct actataatttt tctataaatg 46980  
tagccaaaatt taaagaagtt tgattacgaa aaaaaatcaa aatgacatat aatatgaaac 47040  
tgaggatgta gcagactata gcaaatttaa actatgcttt tattttagag catcaccaaa 47100  
agagatagcc taaatcttat cttaactaat taaaatatct ataattttcc ttctgtcaca 47160  
ttaaattttc gtccgtaaaat ccgattgaaa tccaactaga caatccaaaa aatagagaaa 47220  
aagaacagaa aaaataataa aaagcacaca aatcttatct caatcccgcg ggaagctgcc 47280  
gatgccgccg aatccgctcg agcgccgccg ccgcccgtca cggggaacga tgtcgtgct 47340  
atcgcacgtg gtatgggagg gcgcccgcgc cgctgcttgg gagataggat atggagagag 47400  
aaggaaatgt gagggagggt taggtttttc cccattcgta tcttcagcga cacggaggcg 47460  
atccaagctg tccatcagat cagacggctc agaacgcctc catcttcagg ccgcgcattgc 47520  
ttgatgggcc gaggggaaggc cggagggtcg aacaaacgta gtcagaggag gatttgagg 47580  
aggtaaagta gaattttatt gcgggctgag atagtaaatt gactgaaaat ggcccataga 47640  
gaaattggga atttttattt aataaatgtt gaaaagggtt ttatattatc aaaattagaa 47700  
attaagctcc gaaaatttta aaaaatatct aaagagcatt attaatcatg attaatttaa 47760  
taaaaattaa atccaacat atcatattat ttcacggcgc gcagtaggaa aatgcgcagc 47820

tgttgtcgct tacggtggga gagaaggac attgtttatt ttcagaacta tcttttataa 47880  
ctcccatgga actttaaaaa aaatataatc attattatag cattagtttt tttctgtctt 47940  
ttttttcccc aagagcgccg cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg 48000  
ccggccgacg tctcattctc tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg 48060  
ccatctctc cttccctcc cctctatcct ccactgggtgc cgcccacctc tccgtataag 48120  
acaaactgcg ttgcggcggt gggttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc 48180  
gggcatggcg cgccgcgccc cttcccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat 48240  
ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga 48300  
cgaattgctc cggcgtggca ggggcgcctc gatctacggc ttgaaccgcg cctcgcgga 48360  
cgtcgcgct cacagccccg cggccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagctgg 48420  
cgccgacgag gtaactcccc acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg 48480  
cgcgggccgc ttggacctcg gtctcgcggc cttgggcaat gtcatttaaga agggatttag 48540  
agtggaagcc atcaccttca ctctctgct caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag 48600  
cgacgcaatg gacatagtc tccgcagaat gaccgagctc gggtgcatac caaatgtctt 48660  
ctctacaat aatcttctca acgggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga 48720  
gttgcctgcac atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgaig tgggtcgtga 48780  
taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata 48840  
ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacagct ctattattgc 48900  
tgcgttatgc aagggtcaag ctatggacaa gccatggagg tacttaccac gatgggttaag 48960  
aatgggtgtca tgccigtatt catgacatat aatagttatt tcttgaaatg ttggatcgag 49020  
gcatttgtct ggacactatt ttctttaatt caataatga cagtcattgc aaagaaggga 49080  
gggttataga atctgaaaaa ctctttgacc tgatgggtacg tattgggtgtg aagcctgata 49140  
tcattacata cagtacactc atcgatggat attgcttggc aggttaagat gatgaagcaa 49200  
tgaagtact tctggcatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt acttatagca 49260  
ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt ctttttaagg 49320  
agatggagag cagtggigtg agtccctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 49380  
tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgtcaggatt accgaaagtg 49440  
gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 49500  
tcactgatga tgcacttcag atgttccaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 49560



ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcitaaagt tggcagaaat gatgaagcca 49620  
aggatttggt tgttgctttc tegtctaacg gtttagtgcc gaattattgg acgtacaggt 49680  
tgatggctga aaataattata ggacaggggt tgcitagaaga attggatcaa ctttttcttt 49740  
caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 49800  
tgttgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccatgatt gatgagaagc 49860  
acttttccct cgaagcatcc actgcttccct tgtttataga tcttttgtct gggggaaaaat 49920  
atcaagaata ttataggitt cttccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 49980  
gctgaagcat tttgcagctt tgaattctg tgttggatt cttttctcct acagtcctat 50040  
tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgtatgccac ctctccgaat 50100  
tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 50160  
aaaaacataa aagtttgtcg ttaiccttac taacggatca taaagggatt tgtgactgga 50220  
gtttcaaact taatgtgtct aggcagtaat tttagacatta gatccaaaac aatttatagg 50280  
gtttcaltta atttcatcta tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga cttgtttttt 50340  
aactgaacaa aagatatgtc tgaagctttg tttctttacca aatgcagtac tgatcatcac 50400  
aatataatit ttatggaaca agattggatt gtatagaatg gtltccgac tgattatctt 50460  
atctcaacgt attattatgc acatgtacta atcatgaaat atctgatgga atgatgtttc 50520  
tatttacctg tgtgaggcag caaggagtga gatggataac accacatact cctctatcc 50580  
cagaatataa gaagtttttag agttggacac gattattaag aaagtaggta gaagttagta 50640  
gtggaggggt gtgattgcat gagtagtgga ggtagggtggg aaaagtgaat ggtggaggggt 50700  
tgtgattggt tgggaagaga atgttggttag agaagtgtt atattttggg gagtacatta 50760  
ttattctaga acaatactgt tgtgtctcaag aagcgttcca aagatgtttc acaacctgtg 50820  
ctcgatgggt tttgagctta atcctgggac attcagatc atgatctgtc tcatctttaa 50880  
acatggaata aaggatgaca gcatgatttc tttgtctcta taatcttttg gctaccaca 50940  
gataatagct gtaaactctat actactttta aaggagtagt ggtgggtggtg agtgggtgaat 51000  
ctgccaccac cccaccacca actctcaaaa ttctgacatg tgggatcact gtcaatccct 51060  
tctccaagac atgtgggac actgtcaatc cttcttccaa accaattgta tgatagaaca 51120  
gtggaaatca cggacagacc atggagctct caaccataat catccttgcg agttaataac 51180  
aaatggagcg taaacttggc aagcaaaaaa ctcaaattaa ttctaaaatt aagctctagg 51240  
attcaaaata gatttccctc ctgcatgtg ctgttatgat ttttaattcc gtaacaacgc 51300

aaatgcattt tgctagtcct ataaagaagg gttaatgcaa atattctgat taaatgattg 51360  
tatctatgaa gtttgaatgc tagtggaagc tcctttgacc atgttttggt gtgcgagcat 51420  
ttaagagagt gaagagaatg ctctcttggt gctgttctgg taiggaagga tccacagata 51480  
aaattcaggt tctactgctt ctctgcttgt aattttcatg aagctgcagt gaataccttg 51540  
ttgaccactt gatctgttgc ttigaaggag aatatagtag tggccaaggt tggtagcgg 51600  
gatgggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 51660  
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 51720  
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtacggatc acttctcctt 51780  
tccttttttt ttccacctta agcacctctt tgattcttgc ctgctacctc ccttaatttc 51840  
tttcaatata ttgtggcact tgatcatggc ggagaccac ctccagtggt gaatggattt 51900  
tgtcaaagaa ctaaatttat tccattagct tatttctga ttacatggaa gacattcttt 51960  
tctggaataa atacagaact aaatccgtt tcctgaataa aagttgttag tgtgtggcat 52020  
ggtgcatttc cgcgccttca aattttataa aaccgttca ttcaattga acctgcatcc 52080  
aatccaatat tttagggtgca gacagggtgt tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat 52140  
gcttctgaag aaaggttaat tgttgtttca tctcaggagg taatatgcag atgattattc 52200  
caattggcat tgccttgcca tttttatcac gagtctttac aattttatat cctcctacat 52260  
attctttcca gatccagat gatccagtggt ctccaacaat tgaggcgctt attttgctcc 52320  
atagtaaagc aagtacactt gctgagaacc accagttgac aacacggctt gttgtacat 52380  
caaacaaagt tggttgtatt ctgggggaag gtggaaaggt aattactgaa atgagaagac 52440  
ggactggggc tgaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaaagtac ctgtcttttg 52500  
atgaggagct tgtgcaggta atttatttgg ccatacctac accagagatc catatattac 52560  
ttttataact gcagttttta ctgtttaaca tttcatgtg cttttacatt tgttccaagc 52620  
tttcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc tgacagagat tgcctcgagg 52680  
ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata atccgacacc ttttgccctt 52740  
gttgatggtc ctccgttga tatcttgctt aacaaggaa tcatgctata tggacgatct 52800  
gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac catatggaag acctgccatt 52860  
gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga cctgccaatg atccaccata 52920  
tagaagacct gtcaatgata catcataatg agggttggac aatgatgggc ctctgatca 52980  
ggccccgttc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg ggccccgat tcccagggcc 53040

```

cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgitt 53100
ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat 53160
ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg 53220
gttgatcggc atgctggacg agcacatctg ttgtcgcatc aactgctgac tgctatataat 53280
gtgctggltgc tgaatcgatc gattgtcgtc gcggaagtga agaacaacca cggcactgct 53340
gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag tacgctatac tgcctatcta gatctagatc 53400
gagattacat agtggaaatta tctgtttata aaaaaattac aaggatatcaa ttgataattt 53460
aaggttataa ccgtacaaac ttcagtgatt tgctggtttc acattggtta gatttgtttc 53520
aactaatttg gtacttctgt agccttgtaa ttacgaatc tagtattaat attttcttaa 53580
gtattagcct gttccttgat attatgctgt tgagaaagta tgcaatagat aacaaaaaca 53640
agtaggtgtg ttgaggatgc tcaagagtaa tacagccact tcaataattc tgatattatc 53700
aggacatcat caataattct gcgcctacaa atcttcaaag aaaattttaa tataatgcgt 53760
atgatttttt aaatacgaat attgattgct atttaaagat atttatatta tatggtaatt 53820
attatttgaa ggttttataat aaaggcctcc gtttttagtt tcacgctggg ccttcagaat 53880
ctcaggaccg gccctgctca tgatec                                     53905

```

<210> 29

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 29

atcaggagcc ttcaaattgg gaac 24

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 30

ctcgcaaatt gcttaatitt gacc 24

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 31

tgaaggagtt atgggtgcgt gacg 24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 32

ttgccgagca cacttgccat gtgc 24

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 33

gcgacgcaat ggacatagtg ctcc 24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 34

ttacctgcca agcaatatcc atcg 24

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 35

aaggcatact cagtggaggg caag 24

<210> 36

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 36

ttaacctgac cgcaagcacc tgtc 24

<210> 37  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 37  
tggatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 38  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 38  
agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 39  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 39  
ccctccaaca cataaatggt tgag 24

<210> 40

<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 40  
tttctgccag gaaactgtta gatg 24

<210> 41  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 41  
gcgatcttat acgcatacta tgcg 24

<210> 42  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 42  
aaagtctttg ttcccttcacc aagg 24

<210> 43  
<211> 26  
<212> DNA

<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 43  
gaggatttat caaaacagga tggacg 26

<210> 44  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 44  
tgggcggcag cagtggagga taga 24

<210> 45  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 45  
aagaaggag ggttatagaa tctg 24

<210> 46  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>



<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 46

atatcaggac taacaccact gctc 24

<210> 47

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 47

acgagtagta gcgatcttcc agcg 24

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 48

cagcgtgaaa ctaaaaacgg aggc 24

<210> 49

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 49

atccacatc atcataatcc gacc 24

<210> 50

<211> 25

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 50

agcttctccc ttggatacgg tggcg 25

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 51

atttggttgg tagttgcggc tgag 24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 52

gcccaaactc aaaaggagag aacc 24

<210> 53  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 53  
cctcaagtct cccctaaagc cact 24

<210> 54  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 54  
gctctactgc tgataaacgc tgag 24

<210> 55  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 55  
tggatggact atgtggggc agtc 24

<210> 56  
<211> 24

<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 56  
agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 57  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 57  
tacgacgcca ttccactcca ttgc 24

<210> 58  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 58  
catttctcta tgggcgttgc tctg 24

<210> 59  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 59

acctgtaggt atggcacctt caacac 26

<210> 60

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 60

ccaaggaacg aagttcaaat gtatgg 26

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 61

tgatgtgttt gggcatccct ttcg 24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 62

gagatagggg acgacagaca cgac 24

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 63

tcctatggct gtttagaaac tgcaca 26

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 64

caagttcaaa cataactggc gttg 24

<210> 65

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 65

cactgtcctg taagtgtgct gtgc 24

<210> 66  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 66  
caagcgtgtg ataaaatgtg acgc 24

<210> 67  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 67  
tgcctactgc cattactatg tgac 24

<210> 68  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 68  
acatactacc gtaaaatggtc tctg 24

<210> 69

&lt;211&gt; 4820

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 69

atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgacg tctcattctc tccacgccct 60  
gctcgctgcc gatctcctac accatccctg ccattctctc ctccccctcc cctctatcct 120  
ccactggctg cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt ggtttccgcc 180  
ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgcgc ctccccgcgc 240  
tgttggcgcc cttegcctcg acggctcgat ccaaggcgga ggaggccgcg cggggggcag 300  
tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca ggggcgcctc 360  
gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgctg gacagccccg cggccgcctg 420  
gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg acttgtgcac 480  
ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgcgggcccgc ttggacctcg gtttcgcggc 540  
cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atcgccctca ctccctctgt 600  
caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat 660  
gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctctacaat attcttctca aggggctgtg 720  
tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg atgatcgagg 780  
aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga 840  
gggggatcca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc 900  
tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag ctatggacaa 960  
agccatggag gtacttaaca ccatgggtta gaatgggtgc atgcctgatt gcatgacata 1020  
taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttggatttct 1080  
caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct tgctcatgga 1140  
ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt ctatgaccaa 1200  
gaggggccta aagccigaaa ttactaccta tgggtaccctg cttcaggggt atgctaccaa 1260  
aggagccctt gttgagatgc atggctctct ggatttgatg gtacgaaacg gtatccaccc 1320  
tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct aaacaaggga aagtagatca 1380  
ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcgta 1440



tggagcagtt ataggcatac ttigcaagtc aggcagagta gaagatgcta tgcittatit 1500  
 tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact ccctaattca 1560  
 tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg aaatgttgga 1620  
 tcgaggcatc tgtctgaaca ctatittctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga 1680  
 agggaggggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg gtgtgaagcc 1740  
 caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatatitg ttggcaggta agatggatga 1800  
 agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctataa ctgttactta 1860  
 tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt tagttctttt 1920  
 taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca taattctgca 1980  
 aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta ggattaccga 2040  
 aagtggaaag cagattgaac ttagcacata caacataatc ctcatggac ttigcaaaaa 2100  
 caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg atttgaagct 2160  
 tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttagga gaaatgatga 2220  
 agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt attggacgta 2280  
 caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg atcaactctt 2340  
 tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt tcatlgttag 2400  
 ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact taccittcca tgattgatga 2460  
 gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccctgttt atagatcttt tgtctggggg 2520  
 aaaatatcaa gaatattata ggittctccc tgaaaaatc aagtccttta tagaatcttt 2580  
 gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt ctctacagt 2640  
 cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaataagcg agtttgaatg ctagtggag 2700  
 ctcttttgac catgttttgt tgtgcgagca ttttaagagag tgaagagaat gcttcttttg 2760  
 tgcgttctg gtaatggaagg atccacagat aaaattcagt agtggccaag gttagtgacg 2820  
 gtgatggtag catgtgatcc cccagatctt cagtgacca gagaggaggg gacggcgcgt 2880  
 ggtgagctac aaggcatact cagtggaggg caagatcaag gcctccgctc cgtagggggac 2940  
 tccgctgcat caaggccaac tgctccgaac tgatcaattt ctgggtgcaga caggtagcttg 3000  
 cggtcagggt aaagaagttg gcaaaaatgc ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc 3060  
 tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc aacaattgag gcgcttattt tgcctcatag 3120  
 taaagtaagt acacttgctg agaaccacca gttgacaaca cggcttgttg taccatcaaa 3180

```

caaagttagt tgtattcttg gggaaggtag aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac 3240
tggggcigaa atccgagctt actcaaaagc agataaacct aaglacctgt cttttgatga 3300
ggagcttctg caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga cagagattgc 3360
ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaagttct tccaataatc cgacaccttt 3420
tgccctctgt gatggctctc ctgttgatat ctgtccctaac aaggaattca tgctataatg 3480
acgatctgct aatagtcctc catatggagg gcctgctaat gatccaccat atggaagacc 3540
tgccattgat ccaccataat gaagaccaat atccacaata tggaagacct gccaatgac 3600
caccataatg aagacctgtc aatgatacat catattgagg gttgaacaat gatgggcctc 3660
gtgatcaggc ccggtcctga ggggggctga atggggcgat cgtccgggc ccccgattc 3720
ccagggtccc caccatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg 3780
cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat aacgatcagc 3840
cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag catatcagcc 3900
ttatcttggg tgateggcat gctggacgag cacatctgtt gtgcaccaa ctgctgactg 3960
ctatataatg gctggctgct aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg 4020
gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag 4080
gattaccgaa gactgtcagg tctcactggg tatccagggt gctctgtcga attgtggatt 4140
ccaaatagtt aactggagtc tctcatctgt gttgggtggg tcaatctagc tgagatccgt 4200
ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac tatccccagt cataaccatg ccccaatggc 4260
caccaatagt ttctctctg aaaatctccc ctgatccca gatctctggt gcgagagtga 4320
agttgcacga agcccatcct ggttcttccg agtccattgt ggagatccag ggcatctcgg 4380
atcaagtga agccgcacag agccttctgc aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca 4440
ggcaggcgcc ccagtcctct cgcatggccc attattttta gtaagctgga ggacattcgc 4500
aacagggggg tcagtggcca ctgcaaagct gagtttgttc ttcagttcaa ctgcagaaaa 4560
ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag 4620
tggcataact tattgttgt tactgccccaa tgttgtctct ccttgtgttc atggattcag 4680
acttgtgatt gtagtatctt tggatcagac tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca 4740
tgggtttaac agtaagctca aaacgttgac agtagtaaaa taaaaggggt ttgttactt 4800
taaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

4820

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 4821

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 70

cgatcgcat ctccctgccc cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc cagccctgc 60  
tcgtcgccga tctcctacac cctccctgcc atctccctct tcccctcccc tctatcctcc 120  
actgggtgccg cccacctctc cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg tttccgccgg 180  
cgctgctgct gcacctgtca gctagggcg gcatggcgcg ccgcgcgcgt tcccgcgctg 240  
ttggcgccct tcgctcggaac ggctcgatcc aaggggcgagg agggcgcgcg gggggcagtg 300  
gcgccgagga cgcacgccac gtgttcgacg aattgctccg ccgtggcagg ggcgccctga 360  
tctacggcct gaaccgcgcc ctgcgcgacg tcgcgcgtga cagccccgcg gccgccgtgt 420  
cccgtacaa ccgcatggcc cgagccggcg ccgacgaggt aactcccgac ttgtgcacct 480  
acggcattct catcggttgc tgcctgcgcg cggggccgctt ggacctcggt ttcgcggcct 540  
tgggcaatgt cattaagaag ggatttagag tggacgccaat cgccttcaact cctctgctca 600  
agggccctctg tgccgacaag aggacgagcg acgcaatgga catagtgtct cgcagaatga 660  
ccgagctcgg ctgcatacca aatgtcttct cctacaatat tcttctcaag gggctgtgtg 720  
atgagaacag aagccaagaa gctctcgagc tgcctgcacat gatggctgat gatcgaggag 780  
gaggtagccc acctgatgtg gtgtcgtata ccactgtcat caatggcttc ttcaaagagg 840  
gggattcaga caaagcttac agtacatacc atgaaatgct ggaccggggg attttacctg 900  
atgttgtgac ctacaactct attattgtct cgttatgcaa ggctcaagct atggacaaag 960  
ccatggaggt acttaacacc atgggttaaga atgggtgcat gcctgattgc atgacatata 1020  
atagtattct gcatggatat tgcctcttcag ggcagccgaa agaggctatt ggatttctca 1080  
aaaagatgcg cagtgatggt gtcgaaccag atgttgttac ttatagcttg ctcatggatt 1140  
atctttgcaa gaacggaaga tgcattggaag ctagaaagat tttcgattct atgaccaaga 1200  
ggggcctaaa gcctgaaatt actacctatg gtacctgtct tcaggggtat gctaccaaag 1260  
gagcccttgt tgagatgcat ggtctcttgg atttgatggt acgaaacggt atccaccttg 1320  
atcattatgt tttcagcatt ctaatatgtg catacgctaa acaagggaaa gtagatcagg 1380  
caatgcttgt gttcagcaaa atgaggcagc aaggattgaa tccgaatgca gtgacgtatg 1440

gagcagttat aggcatactt tgcaagtcag gcagagtaga agatgctatg ctttattttg 1500  
agcagatgat cgaatgaagga ctaagccctg gcaacattgt ttataactcc ctaattcatg 1560  
gtttgtgcac ctgtaacaaa tgggagaggg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc 1620  
gaggcatctg tctgaacact attttcttta attcaataat tgacagtcac tgcaaagaag 1680  
ggagggttat agaatctgaa aaactctttg agctgatggc acgtattggc gtgaagccca 1740  
atgtcattac ctacaatact cttatcaatg gataatgctt ggcaggtaag atggatgaag 1800  
caatgaagtt actttctggc atggctcag ttgggttgaa acctaatctt gttacttata 1860  
gcactttgat taatggctac tgcaaaatta gtaggatgga agacgcgtta gtctttttta 1920  
aggagatgga gagcagtggt gttagtcctg atattattac gtataacata attctgcaag 1980  
gtttatttca aaccagaaga actgctgctg caaaagaact ctatgttagg attaccgaaa 2040  
gtggaacgca gattgaactt agcacatata acataatcct tcatggactt tgcaaaaaca 2100  
aactcactga tgatgcactt cagatgttcc agaacctatg ttgatggat ttgaagcttg 2160  
aggctaggac ttccaacatt atgattgatg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag 2220  
ccaaggattt gtttgttgct ttctcgtcta acggtttagt gccgaattat tggacgtaca 2280  
ggttgatggc tgaaaatatt ataggacagg ggttgctaga agaattggat caactcttcc 2340  
tttcaatgga ggacaatggc tgtactgttg actctggcat gctaaatttc attgttaggg 2400  
aactgttgca gagaggtag ataaccaggg ctggcactta cttttccatg attgatgaga 2460  
agcacttttc cctcgaagca tccactgctt ccttgtttat agatcttttg tctgggggaa 2520  
aataatcaaga atattatagg ttctccttg aaaaatacaa gtccctttata gaatctttga 2580  
gctgctgaag cattttgcag ctttgaaatt ctgtgttgga attcttttct cctacagtcc 2640  
tattagagga gggatcttct ctgtatgtgt aaatagcgag ttggaatgct agtgggaagct 2700  
cctttgacca tgttttgttg tgcgagcatt taagagagtg aagagaatgc ttctttgggtg 2760  
ctgttctggt atggaaggat ccacagataa aattcagtag tggccaaggt tggtgacggt 2820  
gatgggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgctgg 2880  
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 2940  
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtgcagaca ggtgcttgcg 3000  
gtcaggttaa agaagtggc aaaaatgctt ctgaagaaag gttaatgtt gtttcatctc 3060  
aggagattcc agatgatcca gtgtctccaa caattgaggc gcttattttg ctccatagta 3120  
aagtaagtac acttgctgag aaccaccagt tgacaacacg gcttgttgta ccatcaaaca 3180

```

aagttggttg tattcttggg gaaggtaggaa aggttaattac tgaaatgaga agacggactg 3240
gggctgaaat ccgagctctac tcaaaagcag ataaacctaa gtaccigtct tttgatgagg 3300
agcttgtgca ggttgcctggg ctccagcta ttgaaagagg agccctgaca gagattgctt 3360
cgaggctttg aactaggaca ctacagagatg gaagttcttc caataatccg acaccttttg 3420
ccccgttga tggctctctt gttgatatct tgcctaacaa ggaattcatg ctatatggac 3480
gatctgctaa tagtccccca tatggagggc ctgctaataa tccaccatat ggaagacctg 3540
ccattgatcc accatatgga agaccaatat ccacaatatg gaagacctgc caatgatcca 3600
ccatatagaa gacctgtcaa tgatacatca tattgagggt tgaacaatga tgggcctcgt 3660
gatcaggccc ggtccctgagg ggggtcgaat ggggcgatcg ctccgggccc cccgattccc 3720
agggccccca cctatctgtg caacgagtag tagcgatctt ccagcgcgca acgtgaggcg 3780
atgtttctcc gtgatttcgc cggcctgcaa ctgcgagatc gcgagtataa cgatcagccg 3840
atcgatctca tctgccgact gccatgctga tgccacacgc aagcgcagca tatcagcctt 3900
atcttgggtg atcggcctgc tggacgagca catctgttgt cgcattcaact gctgactgct 3960
atatatgtgc tgggtgctgaa tcgatcgatt gtcgtcacgg aagtgaagaa caaccacggc 4020
actgctgcct gctgggcctt agccgccatc agctgcggag ctgatccatg gacgtgagga 4080
ttaccgaaga ctgtcaggic tcactgggta tccaggtagc tctgtcgaat tgtggattcc 4140
aaatagttaa ctggagctcg tcattgggtg tggtaggtgc aatctagctg agatccgtct 4200
ggtatagcgt aagagaaaca tcatgcacta tccccagtc taacctatgc ccaatggcca 4260
ccaatagttt tctctgtgaa aatctcccc tgateccaga tctctgggtc gagagtgaag 4320
ttgcacgaag cccatcctgg ttcttccgag tccattgttg agatccaggg cattccgat 4380
caagtgaag ccgcacagag cttctgcaa ggcttcacg gcgcaagcag caacagcagg 4440
caggcgcccc agtctctctg catggcccat tatttttagt aagctggagg acattcgcaa 4500
caggggggtc agtggctact gcaaagctga gttgttctt cagtccaact gcagaaaatt 4560
gcagatcggt tgccgtagtt gctagaacgg tacatagttg ccacctaaact gtagcgagt 4620
gcataactta ttgtgtgta ctgcccaatg ttgtctctcc ttgtgttcat ggattcagac 4680
ttgtgattgt agtatttctg gatcagactg gagtaaaaga aaaaaaaaaa ggaagacatg 4740
ggtttaacag taagctcaaa acgttgacag tagtaaaata aaaggggttt gttcacttta 4800
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

4821

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 5005

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 71

gagatcgatc gcgatctccc tgccccgacg tgcgcggccg atctctcatt ctctccacgc 60  
cctgctcgtc gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctccctcccc tcccctctat 120  
cctccactgg tgccgcccac ctctccglat aagacaaact gcgttgcggc gttggtttcc 180  
gccggcgctg ctgctgcacc tgtcagctag ggcgggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg 240  
cgctgttggc gcccttcgct cggacggctc gatccaaggc cgaggaggcc gcgcgggggg 300  
cagtggcgcc gaggacgcac gccacgigt tgcacgaattg ctccgccgtg gcagggggcg 360  
ctcgatctac ggcttgaacc gcgcccctgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc 420  
cgtgtcccg cacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggtaactc ccgacttgtg 480  
cacctacggc attctcatcg gttgctgctg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc 540  
ggccttgggc aatgtcatta agaagggatt tagagtggac gccatcgcc tcactcctct 600  
gctcaagggc ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgcctccgag 660  
aatgaccgag ctccggctga taccaaatgt cttctcctac aatattcttc tcaaggggct 720  
gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg 780  
aggaggaggt agcccacctg atgtgggtgc gtataccact gtcacatg gcttcttcaa 840  
agagggggat tcagacaaag cttacaglac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt 900  
acctgatgtt gtgacctaca actctattat tgcctgcgtt tgcaaggctc aagctatgga 960  
caaagccatg gaggtactta acacatggt taagaatggt gtcacgctg attgcatgac 1020  
atataatagt attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt 1080  
tctcaaaaag atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgcctcat 1140  
ggattatctt tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac 1200  
caagaggggc ctaaagccgt aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac 1260  
caaaggagcc cttgttgaga tgcattggtct cttggatttg atggtacgaa acggtatcca 1320  
ccctgatcat tatgttttca gcattctaat atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga 1380  
tcaggcaatg cttgtgttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtgcac 1440

gtatggagca gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgccttta 1500  
 ttttgagcag atgatcgatg aaggactaag cccitggcaac attgtttata actccctaata 1560  
 tcatggtttg tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt 1620  
 ggatcgaggc atctgtctga acactatttt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa 1680  
 agaaggagg gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atgggtacgt tgggtgtgaa 1740  
 gcccaatgtc attacctaca atactcttat caatggatat tgcttggcag glaagatgga 1800  
 tgaagcaatg aagttacttt ctggcatggt ctcagttggg ttgaaacct aatactgttac 1860  
 ttatagcact ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgtagttct 1920  
 ttttaaggag atggagagca gtgggtgttag tccigatatt attacgtata acataattct 1980  
 gcaaggttta tttcaaacca gaagaactgc tgcctgcaaaa gaactctatg ttaggattac 2040  
 cgaaagtga acgcagattg aacttagcac atacaacata atccctcatg gactttgcaa 2100  
 aaacaaactc actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa 2160  
 gcttgaggct aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagtig gcagaaatga 2220  
 tgaagccaag gatttgtttg ttgccttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac 2280  
 gtacaggttg atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact 2340  
 ctttctttca atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt 2400  
 tagggaactg ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga 2460  
 tgagaagcac ttttccctcg aagcatccac tgcttccttg tttatagatc ttttgtctgg 2520  
 gggaaaatat caagaatatt ataggtttct ccttgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc 2580  
 tttgagctgc tgaagcattt tgcagcttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac 2640  
 agtcctatta gaggaggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagttga atgctagtgg 2700  
 aagctccctt gaccatgttt tgttgtgca gcatltaaga gagtgaagag aatgcttctt 2760  
 tgggtgctgt ctggtatgga aggatccaca gataaaattc aggagaatat agtagtggcc 2820  
 aaggttgggt acgggatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgac ccagagagga 2880  
 ggggacggcg cgtgggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc aaggcctccc 2940  
 gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtgc 3000  
 agacagggtc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa gaaaggltta 3060  
 ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 3120  
 ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagltgaca acacggcttg 3180

ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgtattc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 3240  
 tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctacicaaa agcagataaa cctaagtacc 3300  
 tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggttg ctgggcctcc agctattgaa agaggagccc 3360  
 tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 3420  
 atccgacacc ttttgcacct gttgatggtc ctctgttga tatcttgcct aacaaggaat 3480  
 tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 3540  
 catatggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 3600  
 cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 3660  
 aatgatgggc ctctgatca ggcccggtcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 3720  
 ggccccccga tccccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 3780  
 gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttgccggcc tgcaactgcg agatcgcgag 3840  
 tataacgac agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 3900  
 cagcataatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcat 3960  
 caactgctga ctgctatata tgtgctggtg ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 4020  
 aagaacaacc acggcactgc tgccctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 4080  
 ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 4140  
 cgaattgttg attccaaata gttaactgga gtctgtcatt ggtgttggtg gtgtcaatct 4200  
 agctgagatc cgtctgggtat agcgttaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 4260  
 atgccccaat ggccaccaat agttttctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 4320  
 ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctgggtctt ccgagtcct tgtggagatc 4380  
 cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 4440  
 agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtc tctcgcatgg cccattatit ttagtaagct 4500  
 ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcaactgcaa gctgagtttg ttcttcagtt 4560  
 caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 4620  
 taactgtagc gagtggcata acttattgtg tgttactgcc caatgttgtc tctccttgtg 4680  
 ttcatggatt cagacttgtg attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 4740  
 aaaaaggaag acatgggttt aacagtaagc tcaaaacgtt gacagtagta aaataaaaagg 4800  
 ggtttgttca ctttatttcc aatatcaacc ttaccaacat ttggcggtga atcatttata 4860  
 ccacatcgct tgtgcagctg aatttggggc tgtttaaaag atggtctctt ggattgctaa 4920



ttgcctcgcg gcaagcgtgg taccttgtac aatataaata taattataac tatttaattt 4980  
 cataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 5005

<210> 72

<211> 4978

<212> DNA

<213> rice

<400> 72

gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc cctgctcgtc 60  
 gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctccctcccc tccccctat cctccactgg 120  
 tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgcggc gttaggtttcc gccggcgctg 180  
 ctgctgcacc tgtcagctag ggcgggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg cgctgttggc 240  
 gcccttcgct cggacggctc gatccaaggg cgaggaggcc gcgcgggggg cagtggcgcc 300  
 gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcaggggcgc ctcgatctac 360  
 ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc cgtgtcccgc 420  
 tacaaccgca tggccccgagc cggcgccgac gaggttaact ccgacttgtg cacctacggc 480  
 attctcatcg gttgctgtg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc ggcccttgggc 540  
 aatgtcatta agaagggtt tagagtggac gccatcgctt tcactcctct gctcaagggc 600  
 ctctgtgccg acaagaggac gagegcgcga atggacatag tgctccgcag aatgaccgag 660  
 ctcggtgca taccaaagt cttctcctac aatatcttc tcaaggggct gtgtgatgag 720  
 aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg aggaggaggt 780  
 agcccacctg atgtggtgtc gtataccact gtcataatg gcttcttcaa agagggggat 840  
 tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt acctgatgtt 900  
 gtgacctaca actctatfat tgctgcgita tgcaaggctc aagctatgga caaagccatg 960  
 gaggtactta acaccatggt taagaatggt gtcatacctg attgcatgac atataatagt 1020  
 attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt tctcaaaaag 1080  
 atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat ggattatctt 1140  
 tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac caagaggggc 1200  
 ctaaagcctg aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac caaaggagcc 1260

cttgttgaga tgcattggtct cttggatttg atggtacgaa acggtatcca ccctgatcat 1320  
 tatgttttca gcatttcta atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga tcaggcaatg 1380  
 ctttgtttca gcaaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac gatggagca 1440  
 gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagaatg ctatgcttta ttttgagcag 1500  
 atgatcgatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actcccta atcatggtttg 1560  
 tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt ggatcgaggc 1620  
 atctgtctga acactatttt ctttaattca ataattgaca gtcatgcaa agaaggagg 1680  
 gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atggtacgta ttggtgtgaa gcccaatgtc 1740  
 attacctaca atactcttat caatggatat tgcctggcag gtaagatgga tgaagcaatg 1800  
 aagttacttt ctggcatggt ctacagttggg ttgaaacct aactgtttac ttatagcact 1860  
 ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgttagttct ttttaaggag 1920  
 atggagagca gtgggtgttag tccgatatt attacgtata acataattct gcaaggttta 1980  
 tttcaaacca gaagaactgc tgcgcaaaa gaactctatg ttaggattac cgaaagtgga 2040  
 acgcagattg aacttagcac atacaacata atccctcatg gactttgcaa aaacaaactc 2100  
 actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa gcttgaggct 2160  
 aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagtgt gcagaaatga tgaagccaag 2220  
 gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac gtacaggttg 2280  
 atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact ctttctttca 2340  
 atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt tagggaactg 2400  
 ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga tgagaagcac 2460  
 ttttccctcg aagcatccac tgcctccttg tttatagatc ttttgtctgg gggaaaatat 2520  
 caagaatatt ataggtttct cccgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc tttgagctgc 2580  
 tgaagcattt tgcagctttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac agtcctatta 2640  
 gaggagggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagtttga atgctagtgg aagctccttt 2700  
 gaccatgttt tgttgtgcga gcatttaaga gagtgaagag aatgcttctt tgggtgctgtt 2760  
 ctggtaigga aggatccaca gataaaattc aggttctact gcttctctgc ttgtaatatt 2820  
 catgaagctg cagtgaatac cttgttgacc acttgatctg ttgctttgaa ggagaatata 2880  
 gtagtggcca aggttgggtga cggatgatgt ggcatgtgat cccccagatc ttcagtgacc 2940  
 cagagaggag gggacggcgc gtgggtgagct acaaggcata ctacagtggag ggcaagatca 3000

aggcctcccg tccgtagggg actccgctgc atcaaggcca actgctccga actgatcaat 3060  
ttctgggtgca gacagggtgct tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat gcttctgaag 3120  
aaaggttaat tgttgtttca tctcaggaga ttccagatga tccagtgtct ccaacaattg 3180  
aggcgcttat ttigtctcat agtaaagtaa gtacacttgc tgagaaccac cagttgacaa 3240  
cacggcttgt tgtaccatca aacaaagttg gttgtattct tggggaaggt ggaaaggtaa 3300  
ttactgaaat gagaagacgg actggggctg aaatccgagt ctactcaaaa gcagataaac 3360  
ctaagtiacct gtctttttgat gaggagcttg tgcaggttgc tgggcttcca gctattgaaa 3420  
gaggagccct gacagagatt gcttcgaggc tttgaactag gacactcaga gatggaagtt 3480  
cttccaataa tccgacacct ttigcccttg ttgatggtec tctgttgat atcttgccca 3540  
acaaggaatt catgctatat ggacgatctg ctaatagtcc cccatatgga gggcctgcta 3600  
atgatccacc atatggaaga cctgccattg atccaccata tggaaagacca atatccacaa 3660  
tatggaagac ctgccaatga tccaccatai agaagacctg tcaatgatac atcataatga 3720  
gggttgaaca atgatgggcc tctgtatcag gcccggctct gaggggggtc gaatggggcg 3780  
atcgctccgg gcccccgat tcccagggcc cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga 3840  
tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga 3900  
gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac 3960  
acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg gttgatcggc atgctggacg agcacatctg 4020  
ttgtcgcatc aactgctgac tgctatatai gtgctgggtc tgaatcgatc gattgtcgtc 4080  
acggaagtga agaacaacca cggcacctgt gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag 4140  
ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc actgggtatc 4200  
caggtagctc tgtcgaattg tggattccaa atagttaact ggagctgtc attgggtgtg 4260  
gtggtgtcaa tctagctgag atccgtctgg tatagcgtaa gagaaacatc atgcactatc 4320  
cccagtcata accatgcccc aatggccacc aatagtittc ctctgaaaa tctccccctg 4380  
atcccagatc tctgggtgcga gagtgaagtt gcacgaagcc catcctgggt cttccgagtc 4440  
cattgtggag atccagggca ttccggatca agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg 4500  
cttcateggc gcaagcagca acagcaggca ggcgccccag tccctctcga tggcccatia 4560  
tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca ggggggtcag tggtcactgc aaagctgagt 4620  
ttgttcttca gttcaactgc agaaaattgc agatcggttg ccgtagtgtc tagaacggta 4680  
catagttgcc acctaaactgt agcgagtgcc ataacttatt gtgtgttact gcccattgtt 4740

gtctctcctt gtgttcatgg attcagactt gtgattgtag tatttctgga tcagactgga 4800  
 gtaaaagaaa aaaaaaaagg aagacatggg tttaacagta agctcaaaac gttgacagta 4860  
 gtaaaataaa aggggtttgt tcactttaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 4978

<210> 73

<211> 4722

<212> DNA

<213> rice

<400> 73

cgccgatctc ctacaccatc cctgccatct cctccttccc ctccccctta tccctccactg 60  
 gtgccgceca cctctccgta taagacaaac tgcgttgcgg cgttgggttc cgccggcgct 120  
 gctgctgcac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc gccgcttccc gcgctgttgg 180  
 cgcccttcgc tcggacggct cgatccaagg gcgaggaggc gcgcgcgggg gcagtgccgc 240  
 cgaggacgca cgccacgtgt tcgacgaatt gctccgccgt ggcagggggc cctcgatcta 300  
 cggttgaac cgcgcccccg ccgacgtcgc gcgtgacagc cccgcggccg ccgtgtcccg 360  
 ctacaaccgc atggccccgag ccggcgccga cgaggttaact cccgacttgt gcacctacgg 420  
 cattctcatt ggttgcctgt gccgcgcggg ccgcttggac ctcggtttcg cggccttggg 480  
 caatgtcatt aagaagggat ttagagtgga cgccatcgcc ttactcttc tgctcaaggg 540  
 cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata gtgctccgca gaatgaccga 600  
 gctcggtcgc ataccaaatg tcttctccta caatatctt ctcaaggggc tgtgtgatga 660  
 gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgat gctgatgatc gaggaggagg 720  
 tagcccacct gatgtgggtgt cgtataccac tgtcatcaat ggcttcttca aagaggggga 780  
 ttcagacaaa gcttacagta cataccatga aatgctggac cgggggattt taccigtatgt 840  
 tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct caagctatgg acaaagccat 900  
 ggaggtactt aacacatgg ttaagaatgg tgtcatgcct gatlgcatga catataatag 960  
 tattctgcat ggatattgct cttcagggca gccgaaagag gctattggat ttctcaaaaa 1020  
 gatgcgcagt gatggtgtcg aaccagatgt tgttacttat agcttgctca tggattatct 1080  
 ttgcaagaac ggaagatgca tggaagctag aaagattttc gattctatga ccaagagggg 1140

cctaaagcct gaaattacta cctatggtag cctgcttcag gggtagcta ccaaaggagc 1200  
 ccttggtgag atgcatggc tcttggaatt gatggtacga aacggatcc accctgatca 1260  
 ttaatgtttc agcattctaa taatgcatc cgctaaacaa gggaaagtag atcaggcaat 1320  
 gcttggtgtc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg aatgcagtag cgtatggagc 1380  
 agttataggc atactttgca agtcaggcag agtagaagat gctatgcttt attttgagca 1440  
 gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattgtttat aactccctaa ttcattggttt 1500  
 gtgcacctgt aacaaatggg agagggctga agagttaatt ctgaaatgt tggatcgagg 1560  
 catctgtctg aacactatit tctttaattc aataatgac agtcattgca aagaaggag 1620  
 ggttatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtacgt attggtgtga agcccaatgt 1680  
 cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca ggtaagatgg atgaagcaat 1740  
 gaagttaact tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct aatactgtta cttatagcac 1800  
 tttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac gcgttagttc tttttaagga 1860  
 gatggagagc agtgggtgtta gtctgatat tattacgtat aacataattc tgcaaggttt 1920  
 atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat gttaggatta ccgaaagtgg 1980  
 aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccttcat ggactttgca aaaacaaact 2040  
 cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg atggatttga agcttgaggc 2100  
 taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa 2160  
 ggatttgttt gttgctttct cgtctaacgg ttttagtgccg aattatigga cgtacaggtt 2220  
 gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc 2280  
 aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta aatttcattg ttagggaact 2340  
 gtgcagaga ggtgagataa ccagggctgg cacttacctt tccatgattg atgagaagca 2400  
 cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata 2460  
 tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg 2520  
 ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc ttttctccta cagtcctatt 2580  
 agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat agcgagtttg aatgctagtg gaagctcctt 2640  
 tgaccatgtt ttgttgtgcg agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtgctgt 2700  
 tctggtagtg aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgtaattt 2760  
 tcatgaagct gcagtgaata ccttggtgac cacttgatct gttgcttga aggagaatat 2820  
 agtagtggcc aaggttgggt acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgc 2880

ccagagagga ggggacggcg cgtgggtgagc tacaaggcat actcagtgga gggcaagatc 2940  
aaggcctccc gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa 3000  
tttctgggtgc agacagggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa 3060  
gaaagggttaa ttgtttgttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt 3120  
gaggcgctta ttttgcctca tagtaaagtg gaaaggtaat tactgaaatg agaagacgga 3180  
ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc taagtlacctg tcttttgatg 3240  
aggagcttgt gcaggttgct gggtctccag ctattgaaag aggagccctg acagagattg 3300  
cttcgaggct ttgaactagg acactcagag atggaagttc ttccaataat ccgacacctt 3360  
ttgccccctgt tgatggctct cctgttgata tcttgccctaa caaggaattc atgctatatg 3420  
gacgatctgc taatagctcc ccatatggag ggccctgctaa tgatccacca tatggaagac 3480  
ctgccattga tccaccatat ggaagaccaa tatccacaat atggaagacc tgccaatgat 3540  
ccaccatata gaagacctgt caatgataca tcataatgag gggtgaacaa tgatgggcct 3600  
cgtgatcagg cccggctcctg aggggggtcg aatggggcgga tcgctccggg cccccgatt 3660  
cccaggggccc ccacctatct gtgcaacgag tagtagcgat ctccagcgc gcaacgtgag 3720  
gcgatgttcc tccgtgattt cgccggcctg caactgcgag atcgcgagta taacgatcag 3780  
ccgatcgatc tcacttgccg actgccatgc tgatgccaca cgcaagcgca gcataatcagc 3840  
cttatcttgg ttgatcgcca tgcctggacga gcacatctgt tgcgcataca actgctgact 3900  
gctatatatg tgcctgggtgt gaatcgatcg attgtcgtca cggaagtga gaacaaccac 3960  
ggcactgctg cctgctgggc tctagccgcc atcagctgcg gagctgatcc atggacgtga 4020  
ggattaccga agactgtcag gtctcactgg gtatccaggt ggctctgtcg aattgtggat 4080  
tccaaatagt taactggagt ctgtcattgg tgttgggtgt gtcaatctag ctgagatccg 4140  
tctgglatag cgtaagagaa acatcatgca ctatccccag tcataaccaa gcccgaatgg 4200  
ccaccaatag ttttctctgt gaaaatctcc ccttgatccc agatctctgg tgcgagagt 4260  
aagttgcacg aagcccatcc tggttcttcc gagtccattg tggagatcca gggcattccg 4320  
gatcaagtga aagccgcaca gagccttctg caaggcttca tcggcgcaag cagcaacagc 4380  
aggcaggcgc ccagtcctc tcgcatggcc cattattttt agtaagctgg aggacattcg 4440  
caacaggggg gtcagtggtc actgcaaagc tgagtttgtt cttcagtcca actgcagaaa 4500  
attgcagatc ggttgcctga gttgctagaa cggtacatag ttgccacctt actgtagcga 4560  
gtggcataac ttatttgttg ttactgcccc atgttgtctc tccttgtgtt catggattca 4620

gacttgtgat tgtagtattt ctggatcaga ctggagtaaa agaaaaaaaa aaaggaagac 4680  
 atgggtttta cagtaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4722

<210> 74

<211> 6164

<212> DNA

<213> rice

<400> 74

cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgac tctcattctc 60  
 tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc ctccccctcc 120  
 cctctatcct ccactgggtgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt 180  
 ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgccg 240  
 ctccccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg 300  
 cggggggcgag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca 360  
 ggggcgccct gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg 420  
 cgcccgccgt gtcccgtac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg 480  
 acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgccggccgc ttggacctcg 540  
 gtttcgcggc ctltgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atcgccctca 600  
 ctccctctgt caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc 660  
 tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctccataaat attcttctca 720  
 aggggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg 780  
 atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgctga taccactgtc atcaatggct 840  
 tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg 900  
 ggattttacc tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 960  
 ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttta gaatgggtgc atgcctgatt 1020  
 gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 1080  
 ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct 1140  
 tgctcatgga ttaiccttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt 1200  
 ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tgggtaccctg cttcagggggt 1260

atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgaig gtacgaaacg 1320  
gtatccaccc tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct aaacaaggga 1380  
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg 1440  
cagtgacgta tggagcagtt ataggcatac ttltgcaagtc aggagagta gaagatgcta 1500  
tgctttatctt tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact 1560  
ccctaattca tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg 1620  
aaatgttggc tggagcagtc tgtctgaaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 1680  
attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg 1740  
gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta 1800  
agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggctctc agttgggttg aaacctata 1860  
ctgttactta tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt 1920  
tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca 1980  
taattctgca aggtttatctt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta 2040  
ggattaccga aagtggaaac cagatigaac ttagcacata caacataatc ctcatggac 2100  
tttgcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg 2160  
atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttggca 2220  
gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt 2280  
attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg 2340  
atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt 2400  
tcattgttag ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacctttcca 2460  
tgattgatga gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccttgttt atagatcttt 2520  
tgtctggggg aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta 2580  
tagaatcttt gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt 2640  
ctcctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatagcg aggtatgtat 2700  
gccacctctc cgaattatctt ttactgtggt tcctagactg taaacaagca attatgttat 2760  
gctgttgatg ccagaaaaaa cataaaagtt tgtcgttatt tctactaacg gatcataaag 2820  
ggatttgtga ctggagtttc aaacttaatg tgtctaggca gtaattttga cattagatcc 2880  
aaaacaattt atagggtttc attaaatttc atctatgtgt actgtttagg tgttgaatag 2940  
tttgacttgt tttttaactg aacaaaagat atgtctgaag ctttgttctt taccaaatgc 3000



agtactgata atcacaatat attttttattg gaacaagatt ggatttgtata gaatggtttc 3060  
tgatctgatt atcttatctc aacgtattat tatgcacatg tactaatcat gaaatatctg 3120  
atggaaatgat gtttctatit acctgtgtga ggcagcaagg agtgagatgg ataacaccac 3180  
atactccctc tgtcccagaa tataagaagt tttagagttag gacacgatta ttaagaaagt 3240  
aggtagaagt gagtagtggg gggtttgtat tgcatgagta gtggaggtag gtgggaaaag 3300  
tgaatggtag agggttgtga ttggttggga agagaatgtt ggtagagaag ttgtttatatt 3360  
ttggggagta cattattatt ctagaacaat actgttgtgc tcaagaagcg ttccaaagat 3420  
gtttcacaac ctgtgtctga tgggttttga gcttaatcct gggacattca gtatcatgat 3480  
ctgtctcatt cttaaacatg gaataaagga tgacagcatg atttctttgt ctctataatc 3540  
ttttggctac ccacagataa tagctgtaaa tctatactac tttaaaagga gtagtggtagg 3600  
tggtgagtag tgaatctgcc accacccac caccaactct caaaattctg acatgtggga 3660  
tcactgtcaa tcccttctcc aagacatgtg ggatcactgt caatcccttc tccaaacca 3720  
ttgtatgata gaacagtggg aatcacggac agaccatgga gctctcaacc ataatcatcc 3780  
ttgcgagtta ataacaaatg gagcgtaaac ttggcaagca aaaaactcaa attaatctta 3840  
aaattaaagct ctaggattca aatagattt cctctctgca ttgtgtgtgt atgattttta 3900  
attccgtaac aacgcaaatg cattttgcta gtcttataaa gaagggttaa tgcaaatatt 3960  
ctgattaaat gattgtatct atgaagttag aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt 4020  
ttgttgtgag agcatttaag agagtgaaga gaatgcctct ttggtagctgt tctggtagtg 4080  
aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgttaatt tcatgaagct 4140  
gcagtgaata ccttgttgac cacttgatct gttagcttga aggagaatat agtagtggcc 4200  
aaggttggtag acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtac ccagagagga 4260  
ggggacggcg cgtggtagag tacaaggcat actcagtggg gggcaagatc aaggcctccc 4320  
gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtag 4380  
agacaggtag ttgcggtag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa gaaagggtta 4440  
ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgttta 4500  
ttttgtccca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 4560  
ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgtatct ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 4620  
tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 4680  
tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggtag ctgggccttc agctattgaa agaggagccc 4740

tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 4800  
 atccgacacc ttttggccct gttgatggtc ctccigtitga tatcttgcct aacaaggaat 4860  
 tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccataatgg agggcctgct aatgatccac 4920  
 catatggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aataaccaca atatggaaga 4980  
 cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcataatg agggitgaac 5040  
 aatgatgggc ctctgatca ggcccgggcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 5100  
 ggccccccga tccccagggc ccccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 5160  
 gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgigat ttccgggcc tgcaactgcg agatcgcgag 5220  
 tataacgac agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 5280  
 cagcataatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gtgtcgcgt 5340  
 caactgctga ctgctatata tgtgctgggt ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 5400  
 aagaacaacc acggcactgc tgccctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 5460  
 ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 5520  
 cgaattgtgg attccaaata gtttaactgga gtctgtcatt ggtgttgggt gtgtcaatct 5580  
 agctgagatc cgtctgggtat agcgtaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 5640  
 atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 5700  
 ggtgcgagag tgaagtigca cgaagcccat cctgggttctt ccgagtccat tgtggagatc 5760  
 cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 5820  
 agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtcc tctcgcatgg ccattatatt ttagtaagct 5880  
 ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcactgcaaa gctgagtttg ttcttcagtt 5940  
 caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 6000  
 taactgtagc gagtggcata acttatgtgt tgttactgcc caatgttgtc tctccttgtg 6060  
 ttcatggatt cagacttgtg attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 6120  
 aaaaaggaag acatgggttt aacagtaaaa aaaaaaaaaa aaaa 6164

<210> 75

<211> 791

<212> PRT

<213> rice

&lt;400&gt; 75

Met	Ala	Arg	Arg	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Val	Gly	Ala	Leu	Arg	Ser
1				5					10					15
Asp	Gly	Ser	Ile	Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Arg	Ala	Gly	Gly	Ser	Gly
				20					25					30
Ala	Glu	Asp	Ala	Arg	His	Val	Phe	Asp	Glu	Leu	Leu	Arg	Arg	Gly
				35					40					45
Arg	Gly	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Leu	Asn	Arg	Ala	Leu	Ala	Asp	Val
				50					55					60
Ala	Arg	Asp	Ser	Pro	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Arg	Tyr	Asn	Arg	Met
				65					70					75
Ala	Arg	Ala	Gly	Ala	Asp	Glu	Val	Thr	Pro	Asp	Leu	Cys	Thr	Tyr
				80					85					90
Gly	Ile	Leu	Ile	Gly	Cys	Cys	Cys	Arg	Ala	Gly	Arg	Leu	Asp	Leu
				95					100					105
Gly	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Asn	Val	Ile	Lys	Lys	Gly	Phe	Arg	Val
				110					115					120
Asp	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Pro	Leu	Leu	Lys	Gly	Leu	Cys	Ala	Asp
				125					130					135
Lys	Arg	Thr	Ser	Asp	Ala	Met	Asp	Ile	Val	Leu	Arg	Arg	Met	Thr
				140					145					150
Glu	Leu	Gly	Cys	Ile	Pro	Asn	Val	Phe	Ser	Tyr	Asn	Ile	Leu	Leu
				155					160					165
Lys	Gly	Leu	Cys	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Gln	Glu	Ala	Leu	Glu	Leu
				170					175					180
Leu	His	Met	Met	Ala	Asp	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Pro	Pro	Asp
				185					190					195
Val	Val	Ser	Tyr	Thr	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Phe	Phe	Lys	Glu	Gly
				200					205					210

Asp Ser Asp Lys Ala Tyr Ser Thr Tyr His Glu Met Leu Asp Arg		
	215	220 225
Gly Ile Leu Pro Asp Val Val Thr Tyr Asn Ser Ile Ile Ala Ala		
	230	235 240
Leu Cys Lys Ala Gln Ala Met Asp Lys Ala Met Glu Val Leu Asn		
	245	250 255
Thr Met Val Lys Asn Gly Val Met Pro Asp Cys Met Thr Tyr Asn		
	260	265 270
Ser Ile Leu His Gly Tyr Cys Ser Ser Gly Gln Pro Lys Glu Ala		
	275	280 285
Ile Gly Phe Leu Lys Lys Met Arg Ser Asp Gly Val Glu Pro Asp		
	290	295 300
Val Val Thr Tyr Ser Leu Leu Met Asp Tyr Leu Cys Lys Asn Gly		
	305	310 315
Arg Cys Met Glu Ala Arg Lys Ile Phe Asp Ser Met Thr Lys Arg		
	320	325 330
Gly Leu Lys Pro Glu Ile Thr Thr Tyr Gly Thr Leu Leu Gln Gly		
	335	340 345
Tyr Ala Thr Lys Gly Ala Leu Val Glu Met His Gly Leu Leu Asp		
	350	355 360
Leu Met Val Arg Asn Gly Ile His Pro Asp His Tyr Val Phe Ser		
	365	370 375
Ile Leu Ile Cys Ala Tyr Ala Lys Gln Gly Lys Val Asp Gln Ala		
	380	385 390
Met Leu Val Phe Ser Lys Met Arg Gln Gln Gly Leu Asn Pro Asn		
	395	400 405
Ala Val Thr Tyr Gly Ala Val Ile Gly Ile Leu Cys Lys Ser Gly		
	410	415 420
Arg Val Glu Asp Ala Met Leu Tyr Phe Glu Gln Met Ile Asp Glu		

425	430	435
Gly Leu Ser Pro Gly Asn Ile Val Tyr Asn Ser Leu Ile His Gly		
440	445	450
Leu Cys Thr Cys Asn Lys Trp Glu Arg Ala Glu Glu Leu Ile Leu		
455	460	465
Glu Met Leu Asp Arg Gly Ile Cys Leu Asn Thr Ile Phe Phe Asn		
470	475	480
Ser Ile Ile Asp Ser His Cys Lys Glu Gly Arg Val Ile Glu Ser		
485	490	495
Glu Lys Leu Phe Glu Leu Met Val Arg Ile Gly Val Lys Pro Asn		
500	505	510
Val Ile Thr Tyr Asn Thr Leu Ile Asn Gly Tyr Cys Leu Ala Gly		
515	520	525
Lys Met Asp Glu Ala Met Lys Leu Leu Ser Gly Met Val Ser Val		
530	535	540
Gly Leu Lys Pro Asn Thr Val Thr Tyr Ser Thr Leu Ile Asn Gly		
545	550	555
Tyr Cys Lys Ile Ser Arg Met Glu Asp Ala Leu Val Leu Phe Lys		
560	565	570
Glu Met Glu Ser Ser Gly Val Ser Pro Asp Ile Ile Thr Tyr Asn		
575	580	585
Ile Ile Leu Gln Gly Leu Phe Gln Thr Arg Arg Thr Ala Ala Ala		
590	595	600
Lys Glu Leu Tyr Val Arg Ile Thr Glu Ser Gly Thr Gln Ile Glu		
605	610	615
Leu Ser Thr Tyr Asn Ile Ile Leu His Gly Leu Cys Lys Asn Lys		
620	625	630
Leu Thr Asp Asp Ala Leu Gln Met Phe Gln Asn Leu Cys Leu Met		
635	640	645

Asp	Leu	Lys	Leu	Glu	Ala	Arg	Thr	Phe	Asn	Ile	Met	Ile	Asp	Ala
				650					655					660
Leu	Leu	Lys	Val	Gly	Arg	Asn	Asp	Glu	Ala	Lys	Asp	Leu	Phe	Val
				665					670					675
Ala	Phe	Ser	Ser	Asn	Gly	Leu	Val	Pro	Asn	Tyr	Trp	Thr	Tyr	Arg
				680					685					690
Leu	Met	Ala	Glu	Asn	Ile	Ile	Gly	Gln	Gly	Leu	Leu	Glu	Glu	Leu
				695					700					705
Asp	Gln	Leu	Phe	Leu	Ser	Met	Glu	Asp	Asn	Gly	Cys	Thr	Val	Asp
				710					715					720
Ser	Gly	Met	Leu	Asn	Phe	Ile	Val	Arg	Glu	Leu	Leu	Gln	Arg	Gly
				725					730					735
Glu	Ile	Thr	Arg	Ala	Gly	Thr	Tyr	Leu	Ser	Met	Ile	Asp	Glu	Lys
				740					745					750
His	Phe	Ser	Leu	Glu	Ala	Ser	Thr	Ala	Ser	Leu	Phe	Ile	Asp	Leu
				755					760					765
Leu	Ser	Gly	Gly	Lys	Tyr	Gln	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Phe	Leu	Pro	Glu
				770					775					780
Lys	Tyr	Lys	Ser	Phe	Ile	Glu	Ser	Leu	Ser	Cys				
				785					790	791				

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleotide primer for amplification

&lt;400&gt; 76

tctcattctc tccacgccct gctc 24

<210> 77  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 77  
acggcggagc aattcgtcga acac 24

<210> 78  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 78  
agtgtgtggc atggtgcatt tccg 24

<210> 79  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 79  
ctctacagga tacacgggtgt aagg 24

<210> 80

&lt;211&gt; 4746

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 80

gccgcgcaga agagatcgat cgcgatctcc ctgccccgac gtcgccggcc gatctctcat 60  
tctctccacg ccttgcctgt cgcgatctc ctacaccatc cctgccatct cctccttccc 120  
ctccccctca tcttccactg gtgccgcccc cctctccgta taagacaaac tgcgttgcgg 180  
cgttggtttc cgcgggcgt gctgcctgac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc 240  
gccgcttccc gcgctgttgg cgccttctgc tggacggct cgatccaagg gcgaggaggc 300  
cgcgcggggg gcagtggcgc cgaggacgca cgccacgtgt tgcacgaatt gctccgccgt 360  
ggcagggggc cctcgatcta cggcttgaac cgcgccctcg ccgacgtcgc gcgtgacagc 420  
cccgcggccg ccgtgtcccg ctacaaccgc atggcccag cggcgccga cgaggtaact 480  
cccgacttgt gcacctacgg cattctcctc ggttgcctgt gccgcgggg ccgcttggac 540  
ctcggttttc cggccttggg caatgtcatt aagaagggat ttagagtgga cgccatcgcc 600  
ttcactcctc tgcctcaagg cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata 660  
gtgctccgca gaatgaccga gctcggctgc ataccaaatg tcttctccta caatattctt 720  
ctcaaggggc tgtgtgatga gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgatg 780  
gctgatgatc gaggaggagg tagcccacct gatgtgggtgt cgtataccac tgtcatcaat 840  
ggcttcttca aagaggggga ttccagacaaa gcttacagta cataccatga aatgctggac 900  
cgggggattt tacctgatgt tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct 960  
caagctatgg acaaagccat ggaggctactt aacaccatgg ttaagaatgg tgtcatgcct 1020  
gattgcatga catataatag tattctgcat ggatatgtct cttcagggca gccgaaagag 1080  
gctattggat ttctcaaaaa gatgcgcagt gatgggtgtc aaccagatgt tgttacttat 1140  
agcttgcctc tggattatct ttgcaagaac ggaagatgca tggaaagctag aaagattttc 1200  
gattctatga ccaagagggg cctaaagcct gaaattacta cctatgggtac cctgcttcag 1260  
gggtatgcta ccaaaggagc ccttgtttag atgcatggtc tcttggattt gatgggtacga 1320  
aacggtaicc accctgatca ttatgttttc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa 1380  
gggaaagtag atcaggcaat gcttgtgttc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg 1440  
aatgcagtga cgtatggagc agttataggc atactttgca agtcaggcag agtagaagat 1500



gctatgcctt attttgagca gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattglttat 1560  
aactccctaa ttcatggctt gtgcacctgt aacaaatggg agagggtga agagttaatt 1620  
cttgaaatgt tggatcgagg catctgtctg aacactatct tctttaattc aataattgac 1680  
agtcattgca aagaaggag gggtatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtagct 1740  
attgggtgtga agcccaatgt cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca 1800  
ggtaagatgg atgaagcaat gaagtacttt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 1860  
aatactgtta cttatagcac ttgtattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 1920  
gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgtta gtcctgatat tattacgtat 1980  
aacataattc tgcaaggctt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaa agaactctat 2040  
gttaggatta ccgaaagtgg aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccttcat 2100  
ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg 2160  
atggatttga agcttgaggc taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt 2220  
ggcagaaaatg atgaagccaa ggatttgttt gttgctttct cgtctaacgg tttagtgccg 2280  
aattatttga cgtacaggtt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa 2340  
ttggatcaac tctttctttc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta 2400  
aatttcattg ttagggaact gttgcagaga ggtgagataa ccagggtgg cacttacctt 2460  
tccatgattg atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct gtttatagat 2520  
cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtc 2580  
tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc 2640  
ttttctcta cagtcctatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat agcgagtttg 2700  
aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt ttgttgtgag agcatttaag agagtgaaga 2760  
gaatgcttct ttggtgctgt tctggtagtg aaggatccac agataaaatt cagtagtggc 2820  
caaggtttgt gacggtagtg gtggcatgtg atccccaga tcttcagtga cccagagagg 2880  
aggggacggc gcgtggtag ctacaaggca tactcagtgg agggcaagat caaggcctcc 2940  
cgtccgtagg ggactccgt gcatcaaggc caactgctcc gaactgatca atttctgggtg 3000  
cagacagggt cttgcgggtc gggttaaagaa gttggcaaaa atgcttctga agaaagggtta 3060  
attgttgttt catctcagga gattccagat gatccagtgt ctccaacaat tgaggcgctt 3120  
attttgctcc atagtaaagt aagtacactt gctgagaacc accagttgac aacacggctt 3180  
gttgtacat caaacaaggt tgggtgtatt ctgggggaag gtggaaaggt aattactgaa 3240

```

atgagaagac ggactggggc tgaaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaagtac 3300
ctgtcttttg atgaggagct tgtgcaggtt gctgggcttc cagctattga aagaggagcc 3360
ctgacagaga ttgcttcgag gcttltgaact aggacactca gagatggaag ttcttccaat 3420
aatccgacac cttttgcccc tgttgaatgg cctccgtttg atatcttgcc taacaaggaa 3480
ttcatgctat atggacgac tgctaatagt ccccatatg gagggcctgc taatgatcca 3540
ccatatggaa gacctgccat tgatccacca tatggaagac caatatccac aatatggaag 3600
acctgccaat gatccacat atagaagacc tgtcaatgat acatcatatt gagggttgaa 3660
caatgatggg cctcgtgac agggccggtc ctgagggggg tcgaatgggg cgatcgctcc 3720
gggccccccg attcccaggg cccccaccta tctgtgcaac gagtagtagc gatcttccag 3780
cgcgcaacgt gaggcgatgt ttctccgtga ttctgccggc ctgcaactgc gagatcgca 3840
gtataacgat cagccgatcg atctcatctg ccgactgcc a tgctgatgcc acacgcaagc 3900
gcagcataac agccttatct tggttgatcg gcatgctgga cgagcacatc tgttgtcgca 3960
tcaactgctg actgclatat atgtgctggg gctgaatcga tcgattgtcg tcacggaagt 4020
gaagaacaac cacggcactg ctgccgtgct ggctctagcc gccatcagct gcggagctga 4080
tccatggacg tgaggattac cgaagactgt caggctcac tgggtatcca ggtggctctg 4140
tcgaattgtg gattccaaat agttaactgg agtctgtcat tgggtgttggg ggtgtcaatc 4200
tagctgagat ccgtctggta tagcgtaaga gaaacatcat gcactatccc cagtcataac 4260
catgccccaa tggccacca a tagttttcct cgtgaaaatc tccccttgat cccagatctc 4320
tgggtgcgaga gtgaagtgc acgaagccca tccgtggttct tccgagtcca ttgtggagat 4380
ccagggcatt ccggatcaag tgaagccgc acagagcctt ctgcaaggct tcatcggcgc 4440
aagcagcaac agcaggcagg cgccccagtc ctctcgcatg gccattatt tttagtaagc 4500
tggaggacat tcgcaacagg ggggtcagtg gtcactgcaa agctgagttt gttcttcagt 4560
tcaactgcag aaaatlgcag atcggttgcc gtagttgcta gaacggtaca tagttgccac 4620
ctaactgtag cgagtggcat aacttattgt gtgttactgc ccaatgttgt ctctccttgt 4680
gttcatggat tcagacttgt gattgtagta ttcttgatc agactggagt aaaagaaaaa 4740
aaaaaa 4746

```

<210> 81

<211> 4779

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 81

tctcattctc tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc 60  
cttccccctc cctctatcct ccactgggtgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg 120  
ttggcgcggtt ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg 180  
cgccgcgccc cttcccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga 240  
ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc 300  
cgccgtggca ggggcgcctc gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt 360  
gacagccccg cgcccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag 420  
gtaactcccc acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgcgggccgc 480  
ttggacctcg gtttcgcggc ctltgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc 540  
atcgccitca ctctctgct caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg 600  
gacatagtgc tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctcttacaat 660  
attcttctca aggggcigtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac 720  
atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc 780  
atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg 840  
ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc 900  
aaggctcaag ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgtc 960  
atgcctgatt gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg 1020  
aaagaggcta ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt 1080  
acttatagct tgcctatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag 1140  
attttcgatt ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg 1200  
cttcaggggt atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctct ggatttgatg 1260  
gtacgaaacg gtatccacce tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatagctt 1320  
aaacaaggga aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg 1380  
aatccgaatg cagtgcgta tggagcagtt ataggcatac ttltgcaagtc aggcagagta 1440  
gaagatgcta tgctttatit tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt 1500  
gtttataact ccctaattca tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag 1560

ttaatticttg aaatgttggg tggaggcatt tgtctgaaca ctatittctt taattcaata 1620  
 attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg 1680  
 gtacgtattg gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc 1740  
 ttggcaggta agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg 1800  
 aaacctaaata ctgttactta tagcacittg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg 1860  
 gaagacgcgt tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgataattatt 1920  
 acgtataaca taattctgca aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa 1980  
 ctctatgtta ggattaccga aagtggacg cagatigaac ttagcacata caacataatc 2040  
 ctctatggac ttgtcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt 2100  
 tgtttgatgg atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcatgtctt 2160  
 aaagtggca gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctctctctgc taacggttta 2220  
 gtgccgaatt attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta 2280  
 gaagaattgg atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc 2340  
 atgctaaatt tcattgttag ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact 2400  
 tacctttcca tgattgatga gaagcacitt tccctcgaag catccactgc ttccttgttt 2460  
 atagatcttt tgtctggggg aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac 2520  
 aagtccttta tagaatcttt gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg 2580  
 gaattctttt ctctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaataagcg 2640  
 agtttgaatg ctatgggaag ctctttgac catgtttgtt tgtgcgagca ttaagagag 2700  
 tgaagagaat gcttcttttg tctgttctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagg 2760  
 agaataatag agtggccaag gttgggtgac gtgatggtag catgtgatcc cccagatctt 2820  
 cagtgacca gagaggagg gacggcgcgt ggtgagctac aaggcactc cagtggaggg 2880  
 caagatcaag gcctcccgct cgtaggggac tccgctgcat caaggccaac tgctccgaac 2940  
 tgatcaattt ctgggtcaga caggtgcttg cggtcagggt aaagaagtgt gcaaaaatgc 3000  
 ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc 3060  
 aacaattgag gcgcttattt tgctccatag taaagtaagt acacttgctg agaaccacca 3120  
 gttgacaaca cggcttgttg taccatcaaa caaagtgggt tgtattcttg gggaaggtag 3180  
 aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac tggggctgaa atccgagtct actcaaaagc 3240  
 agataaacct aagtaacctg cttttgatga ggagcttgtg caggttgctg ggcttccagc 3300

tattgaaaga ggagccctga cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga 3360  
tggaagtict tccaataatc cgacaccitt tgccccigtg gatggtcctc ctgttgatat 3420  
cttgcciaac aaggaattca tgctatatgg acgatctgct aatagtcctc catatggagg 3480  
gcctgcta at gatccacat atggaagacc tgccattgat ccaccataatg gaagaccaat 3540  
atccacaata tggaagacct gccaatgac caccataatag aagacctgtc aatgatacat 3600  
catattgagg gtigaacaat gatgggcctc gtgatcaggc ccggctcctga ggggggtcga 3660  
atggggcgat cgctccgggc ccccgattc ccagggtccc cacctatctg tgcaacgagt 3720  
agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc 3780  
aactgcgaga tcgagagtat aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct 3840  
gatgccacac gcaagcgag catatcagcc ttatcttggt tgatcggtat gctggacgag 3900  
cacatctgtt gtgcgatcaa ctgctgactg ctatataatgt gctgggtgctg aatcgatcga 3960  
ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca 4020  
tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag gattaccgaa gactgtcagg tctcactggg 4080  
tatccagggt gctctgtcga attgtggatt ccaaatagtt aactggagtc tgtcattggt 4140  
gttgggtgtg tcaatctagc tgagatccgt ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac 4200  
tatccccagt cataaccatg ccccaatggc caccaatagt ttccctcgtg aaaatctccc 4260  
cttgatccca gatctctggt gcgagagtga agttgcacga agcccatcct ggttcttccg 4320  
agtccattgt ggagatccag ggcatctcgg atcaagtga agccgcacag agccttctgc 4380  
aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca ggcaggcgcc ccagtcctct cgcatggccc 4440  
attatittta gtaagctgga ggacattcgc aacagggggg tcagtgggtca ctgcaaagct 4500  
gagtttgttc ttcagttcaa ctgcagaaaa ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac 4560  
ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag tggcataact tattgtgtgt tactgccccaa 4620  
tgttgtctct ccttgtgttc atggattcag acttgtgatt gtagtatttc tggatcagac 4680  
tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca tgggtttaac agtaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740  
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4779

<210> 82

<211> 6158

<212> DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 82

cgcgcagaag agatcgatcg cgatctccct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 60  
 tctccacgcc ctgctcgtcg ccgatctcct acaccatccc tgccatctcc tccttccctt 120  
 cccctctatc ctccactggg gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgttgcggcg 180  
 ttggtttccg ccggcgctgc tgctgcacct gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 240  
 cgcttcccgc gctgttggcg ccttctgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 300  
 cgcggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 360  
 caggggcgcc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtgacagccc 420  
 cgcgcccgcc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccgagcc ggcgccgacg aggttaactcc 480  
 cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgctgctgc cgcgcgggcc gcttggacct 540  
 cggtttccgc gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgcttt 600  
 cactccctcg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 660  
 gctccgcaga atgaccgagc tcggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 720  
 caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 780  
 tgatgatcga ggaggaggta gccaccctga tgtgggtgctg tataccactg tcatcaatgg 840  
 cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgctggaccg 900  
 ggggatitita cctgatgttg tgacctacaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 960  
 agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatgggt aagaatggtg tcatgcctga 1020  
 ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 1080  
 tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcgaa ccagatgttg ttacttatag 1140  
 cttgctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 1200  
 ttctatgacc aagaggggcc taaagcctga aattactacc tatggtaccc tgcttcaggg 1260  
 gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggctctc ttggatttga tggtagaaa 1320  
 cggatatccac cctgatcatt atgttttcag catictaata tgtgcatacg cttaaacaagg 1380  
 gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 1440  
 tgcagtgacg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 1500  
 tatgctttat tttgagcaga tgatcgaiga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 1560  
 ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 1620

tgaaatgttg gatcgaggca tctgictgaa cactatittc ttttaattcaa taattgacag 1680  
tcattgcaaa gaagggaggg ttatagaatc tgaaaaactc tttgagctga tggtagctat 1740  
tgggtgtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttata aatggataat gcttggcagg 1800  
taagatggat gaagcaatga agttactttc tggcatggtc tcagttgggt tgaaacctaa 1860  
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 1920  
gttagttctt ttttaaggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 1980  
cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 2040  
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 2100  
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 2160  
ggatttgaag cttagaggta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 2220  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaacgggt tagtgccgaa 2280  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 2340  
ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttagactctg gcatgctaaa 2400  
tttcattgtt agggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttacctttc 2460  
catgatlgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccctgt ttatagatct 2520  
tttgtctggg ggaaaatac aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 2580  
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 2640  
ttctcttaca gtcctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 2700  
atgccacctc tccgaattat ttttactgtg gttccttagac tglaaacaag caattatgtt 2760  
atgctgttga tgccagaaaa aacataaaaag tttgtcgtta tctctactaa cggatcataa 2820  
agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 2880  
ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggtgttgaat 2940  
agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agctttgttc tttaccaa 3000  
gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggaacaaga ttggattgta tagaatggtt 3060  
tctgatctga ttatcttata tcaacgtatt attatgcaca tglactaatc atgaaatac 3120  
tgatggaatg atgtttctat ttacctgtgt gaggcagcaa ggagtgagat ggataacacc 3180  
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gtttttagagt tggacacgat tattaagaaa 3240  
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 3300  
agtgaatggg ggagggttgt gattggttgg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 3360

ttttggggag tacattaita ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 3420  
atgtttcaca acctgtgctc gatgggtttt gagcctaate ctgggacatt cagtatcatg 3480  
atctgtctca ttcttaaaca tgggaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 3540  
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggg 3600  
ggtgggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaaattc tgacatgtgg 3660  
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 3720  
aattgtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccaatg gagctctcaa ccataatcat 3780  
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 3840  
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttccctctctg cattgtgctg ttatgatttt 3900  
taattccgta acaacgcaaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 3960  
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggaggtcc ttgaccaatg 4020  
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgt gttctggtat 4080  
ggaaggatcc acagataaaa ttacaggagaa tatagtagtg gccaaagggtg gtgacgggtga 4140  
tgggtggcatg tgatccccc gatcttcagt gaccagaga ggaggggacg gcgcgtggtg 4200  
agctacaagg catactcagt ggagggcaag atcaaggcct cccgtccgta ggggactccg 4260  
ctgcatcaag gccaaactgt ccgaactgat caatttctgg tgcagacagg tgcttgcggt 4320  
caggttaaag aagtggcaa aaatgcttct gaagaaaggt taattgttgt ttcatctcag 4380  
gagattccag atgatccagt gtctccaaca attgaggcgc ttattttgct ccatagtaaa 4440  
gtaagtlacac ttgctgagaa ccaccagttg acaacacggc ttgttgtacc atcaaacaaa 4500  
gttggttgta ttcttgggga aggtggaaag gtaattactg aaatgagaag acggactggg 4560  
gctgaaatcc gagtctactc aaaagcagat aaacctaatg acctgtcttt tgatgaggag 4620  
cttgtgcagg ttgctgggct tccagctatt gaaagaggag cctgacaga gatgtcttcg 4680  
aggctttgaa ctaggacact cagagatgga agtcttcca ataatccgac accttttgcc 4740  
cctgttgatg gtccctcctgt tgatactttg cctaacaagg aattcatgct atatggacga 4800  
tctgctaata gtccccata tggagggcct gctaataatc caccatatgg aagacctgcc 4860  
attgatccac catatggaag accaatatcc acaatatgga agacctgcca atgatccacc 4920  
atatagaaga cctgtcaatg atacatcata ttgagggttg aacaatgatg ggccctcgtga 4980  
tcaggccccg tcctgagggg ggtcgaatgg ggcgatcgt cggggcccc cgattcccag 5040  
ggccccacc tatctgtgca acgagtagta gcgatcttc agcgcgcaac gtgaggcgat 5100



gtttctccgt gatttcgccg gccctgcaact gcgagatcgc gagtataacg atcagccgat 5160  
 cgatctcaic tgccgactgc catgctgatg ccacacgcaa gcgcagcata tcagcccttat 5220  
 ctctggttgat cggcaigctg gacgagcaca tctgttgctg catcaactgc tgactgctat 5280  
 atatgtgctg gtgctgaatc gatcgatigt cgtcacggaa gtgaagaaca accacggcac 5340  
 tgcigccctgc tgggcictag ccgccatcag ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt 5400  
 accgaagact gtcaggcttc actgggtatc cagggtggctc tgtcgaattg tggattccaa 5460  
 atagttaacc ggagtcctgc attggigtgt gtggigtcaa tctagctgag atccgtctgg 5520  
 tatagcgtaa gagaacatc atgcactatc cccagtcata accatgcccc aatggccacc 5580  
 aatagttttc ctctgtaaaa tctccccctg atcccagatc tctggctgca gagtgaagtt 5640  
 gcacgaagcc catcctgggt cttccgagtc cattgtggag atccagggca ttcgggatca 5700  
 agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg cticatcggc gcaagcagca acagcaggca 5760  
 ggcgccccag tctctctgca tggcccatta tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca 5820  
 ggggggtcag tggtcactgc aaagctgagt ttgttcttca gtccaactgc agaaaaattgc 5880  
 agatcggttg ccgtagtctg tagaacggta catagtggcc acctaaactgt agcgagtggc 5940  
 ataacttatt gtgtgttact gcccaatgtt gtctctcttt gtgttcatgg attcagactt 6000  
 gtgattgtag tatttctgga tcagactgga gtaaaagaaa aaaaaaaaaagg aagacatggg 6060  
 ttttaacagta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6120  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6158

<210> 83

<211> 2864

<212> DNA

<213> rice

<400> 83

aagagatcga tcgcgatctc cctgccccga cgtcgccggc cgatctctca ttctctccac 60  
 gccctgctcg tcgccgatct cctacaccat ccctgccatc tctctcttcc cctccccctt 120  
 atctctccact ggigccgccc accctctccgt ataagacaaa ctgcgttgcg gcgttggttt 180  
 ccgcccggcg tgctgtctga cctgtcagct agggcgggca tggcgcgccg cgccgcttcc 240  
 cgcgctgttg gcgcccctcg ctcggaaggc tcgatccaag ggcgaggagg ccgcgcgggg 300

ggcagtggcg ccgaggacgc acgccacgtg ttcgacgaat tgcctccgccg tggcaggggc 360  
gcctcgatct acggcttgaa ccgcgccctc gccgacgtcg cgcgtgacag ccccgcggcc 420  
gccgtgtccc gctacaaccg catggcccgga gccggcgccg acgaggtaac tcccgacttg 480  
tgcacctacg gcattctcat cggttgctgc tgccgcgcgg gccgcttgga cctcggtttc 540  
gcggccttgg gcaatgtcat taagaaggga tttagagtgg acgccatcgc cttcactcct 600  
ctgctcaagg gcctctgtgc cgacaagagg acgagcgacg caatggacat agtgcctccg 660  
agaatgaccg agctcggctg cataccaaatt gtccttctct acaatatctt tctcaagggg 720  
ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctcgagctgc tgcacatgat ggctgatgat 780  
cgaggaggag glagcccacc tgaatgtgtg tegtatacca ctgtcatcaa tggcttcttc 840  
aaagaggggg attcagacaa agcttacagt acataccatg aaatgctgga ccgggggatt 900  
ttacctgatg ttgtgacctt caactctatt attgctgcgt tatgcaaggc tcaagctatg 960  
gacaaagcca tggaggtaact taacaccatg gttaagaatg gtgtcatgcc tgattgcatg 1020  
acataataata gtattctgca tggatatgtc tcttcagggc agccgaaaga ggctattgga 1080  
tttctcaaaa agatgcgcag tgatgggtgc gaaccagatg ttgttactta tagcttgctc 1140  
atggattatc ttgtcaagaa cggaagatgc atggaagcta gaaagatttt cgattctatg 1200  
accaagaggg gcctaaagcc tgaattactt acctatggta ccttgcttca ggggtatgct 1260  
accaaaggag cccttgttga gatgcatggt ctcttggatt tgatggtacg aaacggtatc 1320  
caccctgac attatgtttt cagcattcta atatgtgcat acgctaaaca agggaaagta 1380  
gatcaggcaa tgcttgtgtt cagcaaaatg aggcagcaag gattgaatcc gaatgcagtg 1440  
acgtatggag cagttatagg cactcttgc aagtcaggca gagtagaaga tgctatgctt 1500  
tattttgagc agatgatcga tgaaggacta agccctggca acattgttta taactcccta 1560  
attcatgggt tgtgcacctg taacaaatgg gagagggtg aagagttaat tcttgaaatg 1620  
ttggatcgag gcattctgtc gaacactatt tcttttaatt caataattga cagtcattgc 1680  
aaagaaggga gggttataga atctgaaaaa ctctttgagc tgatggtacg tattggtgtg 1740  
aagcccaatg tcattaccta caatactctt atcaatggat attgcttggc aggtaagatg 1800  
gatgaagcaa tgaagtactt tcttggcatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt 1860  
acttatagca ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt 1920  
ctttttaagg agatggagag cagtgggtgt agtcctgata ttattacgta taacataatt 1980  
ctgcaagggt tatttcaaac cagaagaact gctgcigcaa aagaactcta tgitaggatt 2040

accgaaagtg gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccctca tggactttgc 2100  
 aaaaacaaac tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg 2160  
 aagcttgagg ctaggacttt caacattatg atigatgcat tgccttaaagt tggcagaaat 2220  
 gatgaagcca aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattattgg 2280  
 acgtacaggt tgatggctga aaatattata ggacaggggt tgcctagaaga attggaatcaa 2340  
 ctctttcttt caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt 2400  
 gttagggaac tgttgacagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccaatgatt 2460  
 gatgagaagc acttttccct cgaagcatcc actgcttcc tgtttataga tcttttgtct 2520  
 gggggaaaaat atcaagaata ttatagggttt ctccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa 2580  
 tctttgagct gctgaagcat ttgacagctt tgaaattctg tgttggaatt cttttctcct 2640  
 acagtcctat tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgtatgccac 2700  
 ctctccgaat tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt 2760  
 tgatgccaga aaaaacataa aagtttgtcg ttatctctac taacggatca taaagggatt 2820  
 tgtgactgga gtttcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2864

<210> 84

<211> 2819

<212> DNA

<213> rice

<400> 84

ctcatctctt ccacgccctg ctctctgccc atctcctaca ccacccctgc catctcctcc 60  
 tccccctccc ctctatcctc cactggctgc gccacctct cgtataaga caaactgcgt 120  
 tgcggcggtg gtttccgccc gcgctgctgc tgcacctgic agctagggcg ggcatggcgc 180  
 gccgcgccgc tccccgcgt gttggcgccc ttcgctcgga cggctcgatc caagggcgag 240  
 gaggccgcgc ggggggcagt ggcgccgagg acgcacgcca cgigtctgac gaattgctcc 300  
 gccgtggcag gggcgccctc atctacggct tgaaccgcgc cctcgccgac gtcgcgcgtg 360  
 acagccccgc ggccgcccgt tcccgttaca accgcatggc ccgagccggc gccgacgagg 420  
 taactcccga cttgtgcacc tacggcattc tcatcggttg ctgctgccgc gcgggccgct 480  
 tggacctcgg tttcgcggcc ttgggcaatg tcattaagaa gggattttaga gtggacgcca 540

tcgcccttcac tccctctgctc aagggccctct gtgccgacaa gaggacgagc gacgcaatgg 600  
 acatagtgtc cgcgagaatg accgagctcg gctgcatacc aaatgtcttc tcctacaata 660  
 ttctttctcaa ggggctgtgt gatgagaaca gaagccaaga agctctcgag ctgctgcaca 720  
 tgatggctga tgatcgagga ggaggtagcc cacctgatgt gggtctgtat accactgtca 780  
 tcaatggctt ctccaagag ggggattcag acaaagctta cagtacatac catgaaatgc 840  
 tggaccgggg gatcttacct gatgttgtga cctacaactc tattattgct gcgttatgca 900  
 aggctcaagc tatggacaaa gccatggagg tacttaacac catggttaag aatgggtgtca 960  
 tgcctgattg catgacatat aataglatte tgcattgata ttgctcttca gggcagccga 1020  
 aagaggctat tggatttctc aaaaagaatgc gcagtatgg tgtcgaacca gatgttgtta 1080  
 cttatagctt gctcatggat tatctttgca agaacggaag atgcatggaa gctagaaaga 1140  
 ttttcgattc tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc 1200  
 ttcaggggta tgctaccaa ggagcccttg ttgagatgca tggctctctg gatttgatgg 1260  
 tacgaaacgg tatccacct gatcattatg ttttcagcat tctaataatgt gcatacgcta 1320  
 aacaagggaa agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga 1380  
 atccgaatgc agtgacgtat ggagcagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag 1440  
 aagatgctat gctttatctt gagcagatga tcgatgaagg actaagccct ggcaacattg 1500  
 tttataactc cctaattcat ggtttgtgca cctgtaacaa atgggagagg gctgaagagt 1560  
 taattcttga aatgttggat cgaggcatct gtctgaacac tattttcttt aattcaataa 1620  
 ttgacagtca ttgcaaagaa gggagggtta tagaatctga aaaactcttt gagctgatgg 1680  
 tacgtattgg tgtgaagccc aatgtcatta cctacaatac tcttatcaat ggatattgct 1740  
 tggcaggtaa gatggatgaa gcaatgaagt tactttctgg catggcttca gtgggttga 1800  
 aacctaatc tgttacttat agcactttga ttaatggcta ctgcaaaatt agtaggatgg 1860  
 aagacgcgtt agttcttttt aaggagatgg agagcagtgg tgttagtcct gatattatta 1920  
 cgtataacat aattctgcaa ggtttatctc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac 1980  
 tctatgttag gattaccgaa agtggaaacgc agattgaact tagcacatac aacataatcc 2040  
 ttcatggact ttgcaaaaac aaactcactg atgatgcact tcagatgttt cagaacctat 2100  
 gtttgatgga ttggaagctt gaggctagga ctttcaacat tatgatgat gcattgctta 2160  
 aagttggcag aatgatgaa gccaaaggatt tgtttgttgc tttctcgtct aacggtttag 2220  
 cgaatta ttggacgtac aggttgatgg ctgaaaatat tataggacag gggttgctag 2280

aagaattgga tcaactcttt ctttcaatgg aggacaatgg ctgtactgtt gactctggca 2340  
tgctaaattt cattgttagg gaactgttgc agagagggtga gataaccagg gctggcactt 2400  
acccttccat gattgatgag aagcactttt ccttcgaagc atccactgct tccttgttta 2460  
tagatctttt gtctggggga aaatatcaag aatattatag gtttctccct gaaaaataca 2520  
agtcctttat agaatctttg agctgctgaa gcattttgca gctttgaaat tctgtgtttg 2580  
aattcttttc tcctacagtc ctatttagagg agggatcttc tctgtatgtg taaatagcga 2640  
ggtatgtatg ccaccctccc gaattatttt tactgttggt cctagactgt aaacaagcaa 2700  
ttatgttatg ctgttgatgc cagaaaaaac ataaaagtgt gtcgttatct ctactaacgg 2760  
atcataaagg gatttgtgac tggagtttca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2819

<210> 85

<211> 2649

<212> DNA

<213> rice

<400> 85

ggtgccgccc acctctccgt ataagacaaa ctgcgttgcg gcgttggttt ccgccggcgc 60  
tgctgctgca cctgtcagct agggcgggca tggcgcgccg cgccgcttcc cgcgctgttg 120  
gcgcccttcg ctccgacggc tcgatccaag ggcgaggagg ccgcgcgggg ggcagtggcg 180  
ccgaggacgc acgccacgtg ttcgacgaat tgcctccgcc tggcaggggc gcctcgatct 240  
acggcttgaa ccgcgccctc gccgacgtcg cgcgtgacag ccccgcggcc gccgtgtccc 300  
gctacaaccg catggccccg gccggcgccg acgaggtaac tcccgacttg tgcacctacg 360  
gcattctcat cggttgcctg tgccgcgcgg gccgcttgga cctcggttcc gcggccttgg 420  
gcaatgtcat taagaaggga ttiagagtgg acgccatcgc cticactcct ctgctcaagg 480  
gcctctgtgc cgacaagagg acgagcgacg caatggacat agtgctccgc agaataccg 540  
agctcggctg cataccaaat gtcttctcct acaatatctt tcicaagggg ctgtgtgatg 600  
agaacagaag ccaagaagct ctcgagctgc tgcacatgat ggctgatgat cgaggaggag 660  
gtagccacc tgatgtgggt tcgtatacca ctgtcatcaa tggcttcttc aaagaggggg 720  
attcagacaa agcttacagt acataccatg aaatgctgga ccgggggatt ttacctgatg 780  
ttgtgacctt caactctatt attgcctgcgt tatgcaaggc tcaagctatg gacaaagcca 840

tgagggtact taacaccatg gtttaagaatg gtgtcatgcc tgattgcatg acatataata 900  
gtattctgca tggatatatgc tcttcagggc agccgaaaga ggctattgga tttctcaaaa 960  
agatgcgcag tgaiggggtc gaaccagatg ttgttactta tagcttgctc atggattatc 1020  
tttgcaagaa cggaagatgc atggaagcta gaaagatfff cgattctatg accaagaggg 1080  
gcctaaagcc tgaattactt acctatggta ccttgcttca ggggtatgct accaaaggag 1140  
cccttggtga gatgcatggt cctctggatt tgaiggttac aaacgggtat caccctgatc 1200  
attatgtfff cagcattcta atatgtgcat acgctaaaca agggaaagta gatcaggcaa 1260  
tgcttggtt cagcaaaatg aggcagcaag gattgaatcc gaatgcagt acgtatggag 1320  
cagttatagg catactttgc aagtcaggca gactagaaga tgctatgctt tattttgagc 1380  
agatgatcga tgaaggacta agccctggca acattgttta taactcccta attcatggtt 1440  
tgigcacctg taacaaatgg gagagggctg aagagttaat tcttgaaatg ttggatcgag 1500  
gcatctgtct gaacactatt tcttttaatt caataattga cagtcattgc aaagaaggga 1560  
gggttataga atctgaaaaa ccttttgagc tgatgggtacg tattgggtgtg aagcccaatg 1620  
tcattaccta caatactctt atcaatggat attgcttggc aggtaagatg gatgaagcaa 1680  
tgaagtactt tcttggtcatg gtctcagttg ggttgaacc taatactgtt acttatagca 1740  
ctttgatata tggctactgc aaaattagta ggaatgaaga cgcgttagtt ctttttaagg 1800  
agatggagag cagtggtgtt agtcctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 1860  
tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgttaggatt accgaaagtg 1920  
gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 1980  
tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 2040  
ctaggacitt caacattatg attgatgcat tgcitaaagt tggcagaaat gatgaagcca 2100  
aggatttgtt tgttgctttc tctctaacg gtttagtgcc gaattatttg acgtacaggt 2160  
tgatggctga aaataattata ggacaggggt tgctagaaga attggatcaa ctttttcttt 2220  
caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 2280  
tgttgagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccatgatt gatgagaagc 2340  
acttttccct cgaagcatcc actgcttcc tgtttataga tcttttgtct ggggggaaat 2400  
atcaagaata ttatagggtt cttccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 2460  
gctgaagcat tttgcagctt tgaattctg tgttggaaat cttttctcct acagtcctat 2520  
tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgiatgccac cttctccgaat 2580

tatittttact gtgggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 2640  
aaaaaaaaa 2649

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 86

cagttggggtt gaaacctaactg 24

<210> 87

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 87

cactaaaccg ttagacgaga aagc 24

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP03/03154

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl.<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68 // A01H1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl.<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68 // A01H1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,  
BIOSIS/WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-139465 A (MITSUI CHEM. INC.), 23 May, 2000 (23.05.00), (Family: none)	1-13
A	WO 02/14506 A1 (JAPAN TOBACCO INC., SYNGENTA LTD. ZENECA LTD.), 21 February, 2002 (21.02.02), & AU 200178745 A & JP 2002-345485 A	1-13
P,A	Komori T. et al., Fine genetic mapping of the nuclear gene, <i>RF-1</i> , that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) by PCR-based markers. Euphytica 2003, Vol.129, No.2, pages 241 to 247	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search  
26 May, 2003 (26.05.03)

Date of mailing of the international search report  
24 June, 2003 (24.06.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68//A01H1/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68//A01H1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,  
BIOSIS/WPI(DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000-139465 A(MITSUI CHEM INC)2000.05.23 ファミリーなし	1-13
A	WO 02/14506 A1(JAPAN TOBACCO INC, SYNGENTA LTD, ZENECA LTD) 2002.02.21 & AU 200178745 A & JP 2002-345485 A	1-13
PA	Komori T. et al., Fine genetic mapping of the nuclear gene, <i>Rf-1</i> , that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice( <i>Oryza sativa</i> L.) by PCR-based makers. Euphytica 2003, Vol. 129, No. 2, p. 241-247	1-13

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26.05.03

国際調査報告の発送日

24.05.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本間 夏子



4N

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3488